

---

ANNALES  
DE  
L'INSTITUT PASTEUR

---

## Études expérimentales sur la Syphilis

PAR  
EL. METCHNIKOFF ET EM. ROUX

---

PREMIER MÉMOIRE  
(Avec les planches XVI et XVII).

---

Dans l'état actuel de nos connaissances et de nos mœurs, la syphilis est pour l'homme un véritable fléau contre lequel il serait fort utile de trouver de nouvelles armes.

Or, jusqu'à présent on ignore la nature de l'agent de cette maladie, et on manque de notions suffisamment précises sur un grand nombre de questions touchant à la pathogénie et à l'immunité de la syphilis.

Autrefois, lorsqu'on ignorait certaines conséquences tardives et très funestes de la syphilis, et lorsqu'on pensait que cette maladie était sûrement curable par les méthodes classiques, on l'inoculait souvent à des êtres humains dans le but d'éclaircir certains points de son histoire. A présent, ces inoculations ne sont plus possibles, tellement leur danger est évident. Aussi a-t-on cherché quelque espèce animale sensible au virus syphilitique.

Il existe toute une littérature sur les tentatives faites pour communiquer la syphilis à des vertébrés de différentes classes. On a inoculé le virus syphilitique à des animaux à sang froid, tels que grenouilles et salamandres (Brieger et Uhlenhut), ainsi qu'à différentes espèces d'oiseaux et surtout aux mammifères. Dans la très grande majorité des cas, les résultats ont été



infructueux. On trouve pourtant de temps en temps l'annonce que des animaux d'expérience ont contracté des lésions syphilitiques plus ou moins nettes. Auzias-Turenne<sup>1</sup> affirme avoir obtenu, en 1866, des papules syphilitiques et des plaques muqueuses chez un chat. Une année plus tard, en 1867, Legros et Lancereaux ont décrit des lésions syphilitiques chez un cobaye inoculé avec un fragment de chancre induré<sup>2</sup>.

Parmi les mammifères inférieurs, l'espèce porcine a surtout servi à des expériences nombreuses d'inoculation du virus syphilitique. D'après nos renseignements, c'est Martineau<sup>3</sup>, qui, le premier, a attribué au cochon la propriété de contracter la syphilis expérimentale. Après avoir inoculé à un jeune porc du pus, provenant d'un chancre syphilitique, il a observé le développement d'une induration parcheminée au point d'inoculation, suivie de l'apparition de papules nombreuses sur les différentes parties du corps.

Plus tard, Adrian<sup>4</sup>, ainsi que Hügel et Holzhauser<sup>5</sup>, ont publié des résultats positifs de transmission du virus syphilitique à des cochons qui contractèrent des exanthèmes, présentant des caractères de papules spécifiques. Neisser<sup>6</sup>, à Breslau, a voulu se renseigner par des expériences personnelles sur la valeur de ces affirmations. Sur 18 cochons inoculés dans des conditions très diverses, il n'a obtenu qu'une seule fois un exanthème circiné qui présentait une analogie avec des accidents syphilitiques secondaires, mais qui, au point de vue histologique, en différait notablement.

Les tentatives sur les mammifères les plus divers n'ayant pas donné de résultats constants ni satisfaisants, on s'est mis à inoculer le virus syphilitique à des singes, à cause de leur affinité zoologique avec l'espèce humaine. Sans parler des expériences faites à l'époque où on ne savait pas encore suffisamment distinguer le chancre syphilitique du chancre simple, nous résumerons en quelques lignes les recherches plus récentes, exécutées sur des singes.

A notre connaissance c'est Klebs<sup>7</sup> qui, le premier, inocula

1. *La Syphilisation*, 1878, p. 422.

2. Cité dans le *Dictionnaire encyclop. d. sciences médic.*, 1884, t. XIV, p. 498.

3. *Ibid.*, p. 499.

4. *Archiv. f. Dermatologie u. Syphilis*, t. XLVII, p. 463.

5. *Ibid.*, t. LI, 1900, p. 225.

6. *Ibid.*, t. LIX, 1902.

7. *Archiv. für experimentelle Pathologie*, 1879, t. X., p. 461.



dans la peau d'une guenon des fragments de chancre syphilitique, et qui observa, six semaines plus tard, une éruption papuleuse sur plusieurs parties du corps. Quelques années après Klebs, Martineau et Hamonic<sup>1</sup> inoculèrent en 1882 un « singe macaque » qui présenta, quatre semaines après l'inoculation, deux chancres indurés sur le prépuce, et chez lequel les deux expérimentateurs ont décrit l'apparition consécutive de syphilitides, de l'adénopathie, d'ulcérations de la voûte palatine et du voile de palais.

Malgré les résultats positifs, annoncés par les auteurs que nous venons de nommer, leurs travaux n'ont pas eu de suite. Cela provient peut-être de ce qu'ils n'ont pas indiqué d'une façon précise quelle espèce de singes ils ont employé dans leurs expériences. Il existe un très grand nombre d'espèces de macaques qui se comportent différemment vis-à-vis du virus syphilitique, de sorte que la simple désignation « singe macaque » reste absolument insuffisante. Aussi, plusieurs observateurs, ayant inoculé à des singes des produits syphilitiques, n'ont obtenu que des résultats nuls ou insignifiants. Ainsi, Sperk<sup>2</sup> a inoculé en 1886 et en 1888 en tout 46 singes de différentes espèces, et sur ce grand nombre d'expériences, il n'a réussi que très peu de fois. Un « singe macaque mâle », après avoir été inoculé par scarification au prépuce avec le produit d'une papule syphilitique, présenta 21 jours après une érosion qui se transforma en un ulcère, semblable au chancre induré. Un mois plus tard, il se produisit une éruption de boutons. Avec l'ulcère de ce singe, Sperk a obtenu chez un autre macaque mâle une ulcération chancriforme qui n'a guéri qu'après environ trois mois. Chez un troisième macaque, inoculé avec l'ulcère du second, il se développa 14 jours plus tard une papule ulcérée qui ne se cicatrisa que 52 jours après son apparition.

A la même époque, Mossé<sup>3</sup>, à Montpellier, inocula une jeune guenon avec les produits d'un chancre syphilitique et d'une plaque muqueuse. Le résultat a été négatif. Beaucoup d'autres chercheurs n'ont pas été plus heureux et, en présence de leur échec, ils n'ont même pas cru utile de publier leurs tentatives.

1. *Bulletin de l'Acad. de méd.*, 1882, p. 1007; *Soc. méd. d. Hôpitaux*, 1883; *Revue clinique d'Andrologie et de Gynécologie*, 1903, p. 225.

2. *Œuvres complètes*, t. II, Paris, 1896, p. 614-616.

3. *Gazette hebdomad. d. sciences méd. de Montpellier*, 1887.



Ainsi, ce n'est que tout récemment que les docteurs Krishaber, A. Fournier et Barthélemy<sup>1</sup> ont fait savoir qu'en 1882 ils avaient pratiqué un grand nombre d'inoculations de produits syphilitiques à des macaques, sajous, cynocéphales, ouistitis et autres singes.

« Quant aux résultats que nous ont fournis ces diverses expériences, — disent les observateurs cités, — ils se résument en ce seul mot : rien » (p. 216). Nous avons eu connaissance d'autres expériences, sur des singes, exécutées dans des laboratoires de Paris, de Breslau et de Saint-Petersbourg, et qui n'ont pas eu plus de succès.

Après un si grand nombre de résultats négatifs, nous devons mentionner les expériences de Maurice Nicolle, faites en 1893 à l'Institut Pasteur. Entre les mains de ce savant, certains singes se sont montrés absolument réfractaires à la syphilis; mais une espèce de macaque a contracté, à la suite de l'inoculation du virus à l'arcade sourcilière, des papules caractéristiques. Ces expériences, dont M. Nicolle nous a fait la démonstration à l'époque, n'ont pas été publiées. Mais plus récemment le docteur Ch. Nicolle les a reprises, et a établi que l'espèce de macaques qui présente une certaine sensibilité pour le virus syphilitique est le Bonnet chinois (*Macacus sinicus*), dont trois individus ont été inoculés avec succès. Ils ont présenté au point d'introduction du virus, dans l'espace de 15 à 19 jours après l'inoculation, des papules squameuses qui ont guéri rapidement (de 10 à 23 jours). Une fois seulement il s'est produit un noyau sous-cutané induré, accompagné d'adénopathie. Mais chez aucun des trois singes il n'a été observé d'accidents ultérieurs, correspondant aux symptômes secondaires de la syphilis.

Tout récemment Hamonic<sup>2</sup> a communiqué à l'Académie de médecine une expérience, dans laquelle un macaque japonais (*M. cynomolgus*) a présenté des ulcérations indurées accompagnées d'adénopathie, ulcérations qui, 9 jours après leur apparition, ont commencé à guérir.

On peut conclure de toutes ces données qu'en général les singes possèdent une immunité naturelle vis-à-vis de la syphilis, mais que cependant, chez quelques espèces, peuvent se produire

1. *La Syphilis*, 1903, t. I, p. 209.

2. *Revue cl. d'Androl. et de Gynécol.*, 1903, p. 326.



certaines manifestations syphilitiques, beaucoup moins prononcées toutefois que chez l'homme.

Nous-mêmes, nous avons inoculé plusieurs macaques bonnets chinois (*Macacus sinicus*) avec du virus syphilitique, et nous avons pu confirmer les faits observés par MM. Nicolle. Environ 20 jours après l'inoculation à la peau, il se développe des papules au point d'introduction du virus ; elles sont entourées d'œdème et se couvrent de croûtes qui tombent au bout de quelques temps. Les ganglions lymphatiques du voisinage ne sont pas perçus à la palpation, ou bien donnent la sensation de petites glandes pas plus grosses que des graines de millet. La courte durée de l'accident primaire, ainsi que l'absence de manifestations secondaires, indique une faible sensibilité du bonnet chinois pour la syphilis. Un certain nombre de ces singes se montrent même complètement réfractaires au virus. Ainsi, sur 5 bonnets chinois que nous avons inoculés, 2 seulement ont présenté les accidents décrits, tandis que les 3 autres n'ont rien montré du tout.

Un jeune mandrill mâle (*Cynocephalus mormon*), que nous avons inoculé avec de la sérosité provenant d'un chancre syphilitique, s'est également montré réfractaire pendant les 2 mois qu'a duré l'expérience.

Dans l'ordre des primates, à côté des macaques et des cynocéphales, il existe tout un groupe de singes anthropoïdes. Nous avons supposé que ces derniers, à cause de leur affinité beaucoup plus grande avec l'espèce humaine, seraient plus sensibles au virus syphilitique.

L'anatomie comparée nous apprend que sous tous les rapports les singes anthropoïdes se rapprochent plus de l'homme que des singes proprement dits. Ce résultat, formulé surtout par Huxley, a été dans ces derniers temps confirmé par Grünbaum et Nuttall, à la suite de leurs recherches sur les propriétés hémolytiques, agglutinatives et précipitantes des sérums. Ils ont établi que le sérum des animaux, préparés avec du sang humain, manifeste vis-à-vis du sang et du sérum d'homme les mêmes propriétés que vis-à-vis du sang et du sérum des singes anthropoïdes (chimpanzé, gorille, orang-outan).

Partant de ces données, nous avons cherché à donner aux singes anthropoïdes des maladies infectieuses propres à l'espèce



humaine. Jusqu'à présent nous n'avons pu nous procurer que des chimpanzés (*Troglodytes niger* et *Tr. calvus*), auxquels nous avons inoculé du virus syphilitique.

Notre première expérience a été faite sur un chimpanzé femelle, âgée de deux ans environ. Nous lui avons inoculé d'abord, par scarification épidermique, au prépuce clitoridien, un peu de sérosité, prise sur un chancre induré d'homme. Cette lésion, datant d'un mois, était déjà en voie de guérison et présentait l'aspect cartilagineux d'un chancre du sillon balano-préputial. L'individu qui nous avait fourni le virus était atteint d'adénopathie sous-maxillaire et était porteur d'une roséole très nette. Il n'avait subi aucun traitement interne, mais appliquait localement de l'eau oxygénée.

Dans la même séance, notre chimpanzé reçut une seconde inoculation sur le rebord sourcilier du côté droit, au moyen d'un peu de sérosité retirée d'une plaque muqueuse chez un individu porteur d'une cicatrice récente d'un chancre induré de la verge, et atteint depuis 3 semaines de 3 ulcérations syphilitiques du même organe. Ce malade n'avait pas plus que le premier subi de traitement général, mais il lavait les parties malades avec de l'eau boriquée.

Ces deux inoculations ayant été faites avec un virus de syphilis déjà avancée, dont les lésions avaient été traitées par des antiseptiques, nous avons cru utile de soumettre notre chimpanzé 5 jours plus tard à une troisième inoculation. Cette fois nous nous sommes servi du raclage d'un chancre induré de la verge, âgé seulement de 3 jours et n'ayant subi aucun traitement. L'inoculation fut pratiquée dans le pli du prépuce clitoridien du côté gauche.

Les petites portes d'entrée du virus se sont fermées au bout de peu de temps, sans donner lieu à aucune lésion. Les 3 premières semaines après l'inoculation se sont passées sans le moindre accident, et ce n'est que le 26<sup>e</sup> jour après l'introduction du virus que nous avons aperçu, du côté droit du prépuce clitoridien, à l'endroit de la première inoculation, une petite vésicule ovale, transparente, entourée d'une zone rougeâtre qui ne touchait pas brusquement sur les parties voisines. Bientôt la vésicule s'est aplatie, s'est transformée en une érosion enfoncée au milieu d'un tissu qui tous les jours devenait de plus en plus



induré. Le fond du chancre se présentait sous forme d'une plaque arrondie de couleur d'ocre (fig. 1, pl. xvi); mais, au bout de peu de temps, l'érosion s'était couverte d'une fausse membrane grise avec des contours très marqués.

Il a été bien constaté qu'au moment de l'inoculation le chimpanzé ne présentait pas de ganglions lymphatiques tant soit peu marqués. Mais, au début de la lésion locale, on pouvait sentir des petits ganglions aux aines des deux côtés. Quelques jours plus tard on percevait une hypertrophie très marquée de ces ganglions du côté droit correspondant au chancre. On pouvait distinguer nettement un paquet, composé de quatre ganglions. De même que les trois ganglions de l'aine gauche, plus petits, ils n'étaient aucunement douloureux, lorsqu'on les touchait ou qu'on les pressait même fortement.

Vers cette époque, c'est-à-dire 20 jours après l'apparition de la vésicule initiale du prépuce, nous avons montré notre chimpanzé à l'Académie de médecine, afin que les membres de cette Compagnie pussent vérifier le résultat de notre première expérience<sup>1</sup>. Tous les membres présents qui ont examiné l'animal ont constaté le caractère syphilitique de la lésion, et des spécialistes, parmi lesquels nous citerons M. le professeur A. Fournier, MM. du Castel, Hallopeau, Marc Sée, ont fait le diagnostic de chancre induré.

Le lendemain de la séance, M. Méheux, photographe spécialiste bien connu, a pris la photographie de l'accident primaire que nous avons fait reproduire sur la planche XVI. Le chancre se trouvait alors en pleine évolution.

Juste un mois après l'apparition du chancre, c'est-à-dire 56 jours après la première inoculation, nous avons pu remarquer sur la peau blanche de notre animal quelques papules, disséminées sur les faces ventrale et dorsale, ainsi que sur les cuisses. Au début nous n'avons pu trouver que 4 papules, mais leur nombre s'est accru jusqu'à 15 les jours suivants.

Ces papules présentaient les caractères de papules squameuses, sèches. Elles étaient rondes, de grandeur un peu différente, et laissaient distinguer une zone périphérique rouge et une partie centrale sous forme de croûte. Il suffisait de gratter un

1. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 1903, 28 juillet.



peu la surface, pour provoquer le suintement d'une sérosité rose et légèrement louche.

Avec le temps ces papules accusèrent de plus en plus leur analogie avec les productions analogues chez l'homme syphilitique. Entre la zone périphérique et la croûte s'était développé un anneau plus étroit, formé de petites squames blanchâtres, et constituant ce que l'on désigne sous le nom de « collerette de Bielt ».

Vingt jours après l'apparition des premières syphilides, les signes caractéristiques de ces papules étaient très manifestes, et c'est alors qu'ont été prises par M. Méheux les photographies reproduites sur les figures 4 et 5 de la planche XVII. A ce moment le chancre, bien qu'encore conservé, présentait des signes incontestables de guérison. Les tissus environnants sont devenus moins hyperémiés et plus flasques; la partie centrale s'est transformée en une croûte sèche et dure.

La période de réparation du chancre a commencé quelques temps après que les accidents étaient le plus développés. La zone périphérique de rouge est devenue pâle et de plus en plus imprégnée de pigment noir ou brun foncé. L'induration des papules a disparu complètement, et ces syphilides se plissaient facilement lorsqu'on les touchait.

Dans la cavité buccale on pouvait distinguer des ulcérations variées, mais il a été impossible de les rattacher d'une façon certaine à la syphilis. Chez les chimpanzés en captivité, il se développe le plus souvent une gingivite opiniâtre, et c'est pour cela qu'on n'ose pas attribuer aux lésions buccales le caractère spécifique. Par contre, l'adénopathie généralisée, développée chez notre animal, pouvait être avec plus de droit considérée comme une manifestation syphilitique. En dehors des ganglions des aines déjà mentionnés, il a été possible de suivre l'hypertrophie des ganglions des aisselles. En outre, pendant la période du développement des accidents secondaires, la rate a présenté une augmentation de volume et s'est montrée dure à la palpation.

Environ trois mois après le début de l'expérience, notre chimpanzé a commencé à manifester des symptômes de malaise. On le trouvait souvent couché dans sa cage. L'animal mangeait et buvait avec moins d'appétit et maigrissait à vue



d'œil. Cet état a duré pendant une quinzaine de jours avec des hauts et des bas successifs, mais finalement la santé s'est altérée d'une façon très grave. Le singe restait couché toute la journée, ne prenait presque aucun aliment et s'affaiblissait de plus en plus. Les derniers jours il toussait un peu, mais ne se plaignait point.

Soixante-dix-neuf jours après le début du chancre et 49 jours après l'apparition des premières syphilides, notre animal a été trouvé mort. Son cadavre ne pesait que 4,600 grammes. A l'autopsie, on a trouvé les ganglions des aines augmentés de volume, ceux du côté droit étaient beaucoup plus gros que ceux de l'aine gauche. La rate, qui pesait 40 grammes, était visiblement hypertrophiée et dure; elle était de couleur rouge foncé et présentait un grand nombre de corps de Malpighi très distincts. Le foie était volumineux (275 grammes), pâle, de couleur jaunâtre. Sa surface montrait plusieurs bosselures. Les reins, anémiés, avaient une couche corticale très développée. Le poumon gauche était faiblement œdémateux et un peu congestionné. Dans la cavité buccale, on apercevait autour des dents de la mâchoire supérieure quelques plaques de nécrose. L'épiglotte était hyperémiee et l'entrée du larynx d'un rouge intense.

Le sang du cœur, le foie, la rate et le poumon, ensemencés sur des milieux de culture, ont donné le lendemain une abondante récolte de pneumocoques soit isolés, soit en petites chainettes. Il faut donc admettre que le chimpanzé est mort d'une pneumococcie généralisée, dont la porte d'entrée s'est faite par les ulcérations de la bouche.

Cette fin prématurée de notre animal a interrompu l'expérience, qui a donné tout de même quelques résultats dignes d'intérêt. Elle a montré que le chimpanzé est de beaucoup plus sensible au virus syphilitique que les singes proprement dits, et que chez lui la syphilis évolue d'une façon comparable à la syphilis de l'homme. En outre de l'accident primitif, long à guérir, il se développe chez le chimpanzé des manifestations syphilitiques secondaires, sous forme de syphilides papulo-squameuses. D'un autre côté, cette première expérience a prouvé que le chancre induré d'homme, quoique étant en voie de guérison et âgé d'un mois, renferme encore assez de virus actif pour provoquer



la syphilis chez le chimpanzé. En troisième lieu, il découle de notre expérience que l'immunité vis-à-vis de l'accident primitif s'établit avec une grande rapidité. Des trois inoculations successives, il n'y a que la première qui ait donné un résultat positif. La seconde inoculation, pratiquée 5 jours après la première, avec un virus probablement plus fort, n'a été suivie d'aucune manifestation. On peut en conclure que cette immunité est déjà acquise en peu de jours.

Dans le but d'établir si la syphilis du chimpanzé était capable de se transmettre à d'autres individus du même genre, nous avons inoculé à un chimpanzé mâle (*Troglodytes calvus*) des produits syphilitiques du premier animal. 45 jours après l'apparition du chancre induré chez celui-ci, c'est-à-dire à une période où cette lésion syphilitique était en voie de guérison manifeste, nous avons prélevé un peu de sérosité que nous avons inoculée à la verge de notre second animal. Comme dans la première expérience, l'inoculation a été tout à fait superficielle et pratiquée avec le scarificateur de Vidal.

Nous avons pensé qu'un chancre aussi avancé dans son évolution et prêt à guérir pouvait peut-être avoir déjà perdu de sa virulence. Pour cette raison, nous avons en même temps inoculé un peu de raclage, prélevé à une syphilde papuleuse du premier chimpanzé, à la cuisse gauche de notre second animal d'expérience.

Les premiers jours après ces deux inoculations, on n'observa rien de particulier, les petites lésions occasionnées par le scarificateur s'étant fermées au bout de peu de temps. Mais 8 jours après, nous avons constaté à la cuisse gauche deux petites ulcérations passagères. Après quoi, pendant toute une période consécutive, nous ne pouvions apercevoir aucun symptôme morbide. Ce n'est que 35 jours après l'inoculation qu'est apparue du côté gauche de la verge une petite érosion superficielle. Elle avait la largeur d'une petite lentille et ne présentait ni rougeur ni induration. Mais les jours suivants la lésion a progressé notablement. Elle est devenue plus grande et s'est allongée. Au même moment, il se développa sur la cuisse inoculée une seconde érosion, entourée d'un tissu légèrement induré. Les ganglions lymphatiques étaient palpables dans les deux aines.



Les jours suivants, la lésion de la verge a fait des progrès considérables. En même temps l'accident primaire de la cuisse s'est ulcéré dans sa partie centrale; la rougeur et l'induration sont devenues très prononcées et le tout a pris l'aspect caractéristique d'un chancre superficiel de la peau. Les ganglions de l'aîne du côté correspondant aux lésions de la verge et de la cuisse se sont notablement hypertrophiés; on pouvait y distinguer nettement deux ganglions mobiles, indolores et durs.

Un mois après son apparition, le chancre de la cuisse a commencé à rétrograder, tandis que celui de la verge a continué à progresser. Les ganglions lymphatiques de l'aîne gauche ont pendant ce temps encore augmenté de volume. Cette hypertrophie cependant ne s'est pas maintenue et dans la suite les ganglions ont sensiblement diminué de grosseur. Environ 6 semaines après son apparition, le chancre de la cuisse a commencé à guérir, celui de la verge est au contraire resté sans changement jusqu'à la mort de l'animal, survenue 45 jours après le début des manifestations syphilitiques.

Les deux dernières semaines de sa vie, le chimpanzé souffrait de rhume et toussait fréquemment. L'appétit et les forces diminuèrent progressivement et l'animal finit par succomber. Sur le cadavre on pouvait apercevoir à la verge le chancre induré très typique. Les restes du chancre de la cuisse se sont montrés entourés d'une zone large pigmentée et renfermant au centre une squame sèche, dure et épaisse. Il n'a été possible de constater aucun accident secondaire. A l'autopsie, la rate a été trouvée adhérente au péritoine; le foie et les reins étaient pâles, de couleur jaunâtre. L'estomac et l'iléon accusaient quelques légères ulcérations. Les poumons n'ont présenté rien d'anormal. Le sang du cœur,ensemencé sur gélose, a donné une culture très abondante d'un petit coccobacille qui ne prend pas le Gram et qui présente une certaine ressemblance avec le coccobacille de Pfeiffer, isolé des cas d'influenza. Mais les deux microbes ne sont pas identiques, car celui du chimpanzé pousse bien sur gélose ordinaire, non additionnée de sang.

L'expérience que nous venons de relater nous a fourni une nouvelle preuve de la sensibilité du chimpanzé pour le virus syphilitique. Elle nous a montré en outre que la syphilis est capable de se transmettre d'un chimpanzé à l'autre et que le



virus du chancre est aussi capable de provoquer l'accident primaire que celui d'une syphilide papulo-squameuse. Mais tandis que le virus du chimpanzé a développé le chancre chez un second individu du même genre, il est resté sans effet sur un jeune mandrill. De même, le raclage du chancre de la cuisse de notre second chimpanzé, inoculé à la région sourcilière d'un *Macacus sinicus*, n'a rien produit. Ce fait indique peut-être une certaine atténuation du virus syphilitique après son passage à travers l'organisme du chimpanzé. Ce résultat devra être contrôlé par des recherches ultérieures que nous sommes en train de poursuivre.

Les faits que nous avons pu établir dans ce mémoire découlent de nos recherches qui ne sont qu'à leur début, ils montrent néanmoins qu'une contribution utile à l'étude de la syphilis peut être fournie par l'expérimentation sur les animaux, et notamment sur les singes anthropoïdes. Chez ces derniers, l'évolution de la maladie présente en effet la plus grande analogie avec la syphilis humaine.

Les recherches dont nous avons esquissé une première partie n'ont pu être exécutées que grâce à de nombreux concours. Aussi nous exprimons notre reconnaissance aux syphiligraphes qui ont voulu à plusieurs reprises examiner nos animaux, notamment à MM. le professeur A. Fournier, du Castel, Hallopeau et Danlos. Nous remercions également MM. les docteurs Salmon et Queyrat, qui nous ont fourni le matériel nécessaire pour les inoculations, et qui nous ont aidé dans l'examen de nos animaux d'expérience. Nous devons aussi nos remerciements à l'Institut de France et au Quatorzième Congrès international de Médecine à Madrid pour les prix (Osiris et de Moscou) qu'ils nous ont accordés, et qui nous ont permis d'entreprendre ces expériences très coûteuses, ainsi qu'à la direction du Jardin des Plantes de Paris et à M. Gazengel, pour le don du chimpanzé mâle, dont nous avons relaté l'histoire.

---



## EXPLICATION DES FIGURES

---

Planche XVI. Fig. 1. Partie postérieure du corps du chimpanzé femelle, avec le chancre induré de la vulve. 21<sup>e</sup> jour après l'apparition. On voit bien la proéminence de la peau de l'aine droite qui recouvre le paquet ganglionnaire.

Planche XVII. Fig. 2. Lésion primaire, prise le 8<sup>e</sup> jour après le début.

Fig. 3. La même, avec le clitoris écarté.

Fig. 4. Lésion primaire en voie de guérison, ainsi que deux syphilides papulo-squammeuses.

Fig. 5. Une syphilide papulo-squammeuse de la partie dorsale du chimpanzé.

---

# RECHERCHES SUR LA COAGULATION DU SANG

PAR LES D<sup>RS</sup> JULES BORDET ET OCTAVE GENGOU

---

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

(Travail de l'Institut Pasteur de Bruxelles.)

---

Nous avons attiré l'attention, dans un travail antérieur <sup>1</sup>, sur une propriété intéressante du plasma obtenu par la méthode des tubes paraffinés. Le point de départ de ces recherches était l'observation bien connue de Freund, d'après laquelle le sang recueilli, au sortir du vaisseau, dans un vase dont les parois sont enduites d'huile ou de vaseline, ne se coagule qu'avec une extrême lenteur. Dans le but d'obtenir du plasma, nous tentâmes tout d'abord de centrifuger, sans qu'il se coagulât, du sang contenu dans un tube intérieurement vaseliné. Mais la vaseline étant trop molle, se détachait du verre sous l'action de la force centrifuge. Nous eûmes recours alors à des tubes dont les parois intérieures étaient recouvertes d'une couche de paraffine solide. Dans ces conditions il nous fut facile d'obtenir, par centrifugation et décantation, du plasma bien débarrassé d'éléments cellulaires, et qui ne se coagulait qu'avec une lenteur tout à fait inusitée (parfois au bout de 4 à 5 heures, parfois seulement au bout de 24 à 30 heures). Mais il était indispensable, pour conserver à l'état liquide ce plasma limpide et privé de cellules, *de ne point lui faire subir d'autre contact que celui de la paraffine*. Nous constatâmes en effet, qu'un tel plasma, susceptible de rester liquide pendant un temps fort prolongé à condition d'être maintenu en tube paraffiné, se coagulait très rapidement lorsqu'on le transvasait dans un tube non paraffiné ou qu'on le versait sur une plaque de verre; on observait alors que la

1. Recherches sur la coagulation du sang. Ces *Annales*, 1901. Les expériences relatées dans le présent mémoire ont fait l'objet d'une note transmise récemment à l'Académie royale de médecine de Belgique.



surface du verre se tapissait rapidement d'une couche de fibrine, d'abord très mince, adhérant à la paroi, et qui peu à peu s'épaississait, la coagulation se propageant à toute la masse du plasma.

Comme il s'agissait de plasma ne contenant en suspension aucune espèce d'élément cellulaire, notre conclusion fut non seulement que le contact avec un corps tel que le verre accélère la coagulation du sang (ce qu'on savait depuis longtemps), mais encore que cette influence favorisante peut s'exercer sur les substances inorganisées du plasma, dans des conditions où toute participation d'une sensibilité ou irritabilité cellulaire est formellement exclue. Il s'agit ici d'un phénomène non pas biologique, mais physico-chimique; l'influence qui intervient est vraisemblablement l'adhésion moléculaire, la paraffine se distinguant du verre en ce qu'elle n'est pas mouillée par le plasma.

Si l'on verse du plasma dans un verre de montre enduit de paraffine, on remarque que les poussières de l'air (débris d'étoffe, poils de laine, etc.) tombant sur la surface du liquide s'entourent bientôt d'une zone de coagulation, qu'il est facile de déceler au moyen de petits tubes capillaires dont on met l'orifice en contact avec la surface du plasma. Si l'on fait toucher par l'extrémité du capillaire un point très voisin de celui où flotte depuis quelque temps une poussière, on s'aperçoit que le plasma ne s'élève pas dans le tube, tandis qu'en d'autres endroits de semblables tubes capillaires se remplissent dès qu'ils piquent le liquide. Comme celui du verre ou des poussières, le contact du platine favorise la coagulation.

Tels sont les faits relatifs au rôle du contact dans la coagulation, que nous avons exposés dans notre précédent mémoire. Il nous a paru opportun de les soumettre à une étude plus approfondie, qui fait l'objet du présent article.

### § I. RÔLE DU CONTACT DANS LA PRODUCTION DU FIBRIN-FERMENT.

Nous ne nous proposons point d'aborder ici la question de l'origine cellulaire des substances actives qui président à la coagulation, qui, en d'autres termes, font passer le fibrinogène à l'état de fibrine solide. Nous considérerons exclusivement

des plasmas limpides, débarrassés par une centrifugation prolongée, de tout élément cellulaire.

On sait que le sang circulant ne renferme pas le principe coagulant actif (Schiff). Le sang qui jaillit du vaisseau n'en contient pas dans les premiers instants. Mais bientôt ce principe apparaît, provoque la coagulation, et se retrouve dans le sérum exsudé du caillot. M. Arthus a étudié très soigneusement la marche de la production *in vitro*, du fibrin-ferment dans le sang que l'on vient d'extraire.

On sait aussi qu'on peut obtenir des plasmas incoagulables spontanément, et qui ne contiennent pas de fibrin-ferment. Tel est le plasma oxalaté obtenu d'abord par MM. Arthus et Pagès. Si ce plasma contenait du fibrin-ferment, il se transformerait en caillot ; en effet Pekelharing a montré que du plasma oxalaté coagule par l'addition de sérum provenant d'une coagulation normale antérieure, même si le sérum a été, avant d'être mélangé au plasma, additionné d'oxalate<sup>1</sup>. Il en résulte non seulement que le plasma oxalaté ne contient pas le principe coagulant dont le sérum est abondamment pourvu (fibrin-ferment), mais encore que la présence d'oxalate n'empêche pas ce ferment de transformer le fibrinogène en fibrine.

Mais le plasma oxalaté, même complètement privé de cellules, présente ce caractère, signalé par Arthus et Pagès, de se coaguler rapidement quand on y introduit un sel soluble de calcium en quantité légèrement supérieure à celle qui suffit à précipiter complètement l'oxalate. Le sérum qui s'exsude du caillot formé contient du fibrin-ferment, car, additionné d'oxalate en excès, il provoque la coagulation du plasma oxalaté. L'addition de sel calcique au plasma oxalaté y fait donc apparaître le fibrin-ferment ; on est bien forcé d'admettre, naturellement, que celui-ci se forme aux dépens d'une matière préexistante, génératrice du fibrin-ferment, et qui a été dénommée *proferment*. On est donc autorisé à dire que le plasma oxalaté renferme du proferment ; celui-ci exige, pour se transformer en ferment actif, l'addition de sels de chaux ; dès que le ferment est produit, la présence de chaux n'est plus indispensable à la coagulation.

1. Rappelons que l'oxalate alcalin s'emploie dans ces expériences à dose de 1 0/00 environ.



L'opinion généralement acceptée est que le pouvoir anticoagulant des oxalates est dû uniquement à ce que ces sels insolubilisent le calcaire, la présence du calcium soluble étant une condition nécessaire à la production même du ferment coagulant aux dépens du proferment:

Toutes ces notions, on le sait, résultent surtout des remarquables travaux de Arthus et Pagès, Pekelharing, Hammarsten.

Nous emploierons donc le langage généralement usité, et nous dirons qu'un liquide renferme du fibrin-ferment lorsque, additionné d'oxalate, il est capable de coaguler le plasma oxalaté. Nous dirons qu'il renferme du proferment lorsque du fibrin-ferment peut y prendre naissance dès qu'on fait intervenir certaines influences.

\*  
\* \*

Pour ce qui concerne le rôle du contact, nous devons évidemment nous poser la question suivante : Pourquoi le plasma limpide, que l'on obtient en centrifugeant du sang de lapin recueilli directement au sortir du vaisseau dans des tubes paraffinés, pourquoi ce plasma privé de cellules et qui reste longtemps liquide dans les tubes paraffinés, se coagule-t-il si vite en présence de corps mouillables tels que le verre? Que fait le contact du verre? Accélère-t-il la production du fibrin-ferment, ou bien favorise-t-il l'activité coagulante de ce dernier? En d'autres termes, dans le plasma liquide maintenu en tube paraffiné, l'absence de coagulation est-elle due à ce que le fibrin-ferment ne se produit pas (c'est-à-dire à ce que le proferment ne se transforme pas en ferment actif), ou bien à ce que ce principe apparaissant, son influence est paralysée pour une raison quelconque?

A vrai dire, il n'était pas commode, pour résoudre ce problème, de recourir à la technique mentionnée plus haut, et qui consiste à recueillir directement le sang de lapin, au sortir de l'artère, dans des vases paraffinés, en évitant tout contact autre que celui de la paraffine. Cette technique est d'exécution assez difficile; en outre, le plasma qu'on peut obtenir ainsi finit toujours par se coaguler au bout d'un certain nombre d'heures, fort sujet à varier, du reste, de telle sorte qu'on n'a guère le temps d'utiliser un même plasma pour plusieurs expériences. Il fallait donc procéder autrement; aussi avons-nous eu recours

à un plasma dont nous avons attentivement étudié les propriétés et qui est le plasma chloruré sodique.

*Préparation et caractères du plasma salé.* — On le sait, Hewson, Denis, Schmidt, ont montré que le sang ne se coagule pas lorsqu'on le recueille, au sortir du vaisseau, dans une solution de NaCl suffisamment concentrée pour que la teneur du sang en sel s'élève à 5 0/0 environ<sup>1</sup>. Par centrifugation, on obtient du plasma qui conservé tel quel, reste indéfiniment liquide, mais qui se coagule bientôt si on l'additionne d'eau distillée en quantité assez grande pour abaisser la teneur saline à 1 0/0 environ, la teneur en chlorure redevenant alors assez voisine de celle qu'on observe dans le sang normal.

Nous basant sur ces données, nous préparions généralement notre plasma salé en recueillant 15 c. c. de sang dans un tube à saigner contenant déjà 5 c. c. de solution aqueuse de NaCl à 20 0/0. Le sang salé était soumis à une centrifugation prolongée et l'on obtenait un plasma entièrement débarrassé des globules rouges ou blancs et des plaquettes. Si, à une partie de ce plasma décanté, on ajoutait 4 parties d'eau distillée, la coagulation s'opérait au bout d'un temps qui variait suivant les échantillons, mais qui en général était environ d'une demi-heure à trois quarts d'heure.

Ce plasma salé à 5 0/0 se conserve très longtemps sans que ses propriétés se modifient. Gardé pendant une semaine ou deux, il coagule encore par addition d'eau distillée, avec la même facilité qu'au début. Avec une petite provision d'un tel plasma, on peut donc faire un grand nombre d'expériences. Et si, lorsqu'on le dilue d'eau distillée, il ne se prend en masse qu'au bout d'une demi-heure environ (laps de temps qui peut paraître un peu long) cela tient à la dilution des substances actives. En effet, on observe que du sang normal exige un temps assez long pour se coaguler si, au sortir du vaisseau, on le dilue dans 4 ou 5 parties de solution de NaCl à 1 0/0 ; cet effet retardateur de la dilution est d'ailleurs fort naturel<sup>2</sup>.

Le plasma salé à 5 0/0, qui se coagule en une demi-heure

1. Cette quantité de sel est notablement supérieure à celle qui suffit à empêcher la coagulation. Pour obtenir un plasma incoagulable, on peut n'ajouter au sang que 2 0/0 de NaCl environ.

2. Dans un travail qui vient d'être publié (*Bulletin de la Société de Biologie*, 20 novembre 1903), M. Stedel observe également l'influence retardatrice de la dilution sur la coagulation du sang.



environ lorsqu'on l'additionne de 4 parties d'eau distillée, donne un caillot dont s'échappe bientôt un sérum riche en fibrin-ferment. En effet, ce sérum, oxalaté à 1 0/00, provoque la coagulation du plasma oxalaté, lequel, nous venons de le rappeler, est un excellent réactif dénotant la présence du fibrin-ferment. — Mais le plasma salé originel, avant d'être dilué par de l'eau distillée, ne renfermait pas de fibrin-ferment; on peut s'en assurer en faisant intervenir les oxalates alcalins. Tandis que le plasma salé se coagule si on le dilue dans la quantité voulue, 4 parties d'eau distillée, il reste indéfiniment liquide lorsqu'on l'additionne d'une quantité identique d'eau distillée contenant de l'oxalate sodique. Le plasma dilué oxalaté ainsi obtenu, incoagulable spontanément, reprend toute son aptitude à la coagulation lorsqu'on lui restitue ultérieurement un sel calcique soluble en léger excès, de manière à éliminer l'oxalate. — Il en résulte que si le plasma salé à 5 0/0 ne renferme pas de fibrin-ferment, il en renferme la substance mère. La transformation de ce proferment en ferment actif s'opère quand on dilue le plasma salé dans de l'eau distillée pure; mais elle ne peut s'effectuer si l'on se sert d'eau distillée additionnée au préalable d'oxalate. On obtient ainsi du *plasma dilué oxalaté incoagulable*<sup>4</sup>.

Lorsqu'on dilue le plasma salé dans l'eau distillée, au bout de combien de temps le fibrin-ferment commence-t-il à apparaître dans le liquide?

Une expérience très simple permet de répondre à cette question. Il suffit de diluer du plasma salé dans la quantité voulue d'eau distillée, et de rechercher au bout de combien de temps l'addition d'oxalate empêche encore la coagulation. On mélange 2 c. c. de plasma salé à 8 c. c. d'eau distillée; immédiatement après, on verse dans divers tubes 9/10 de c. c. du liquide obtenu. L'un des tubes est conservé sans aucune addition ultérieure; les autres reçoivent, au bout de temps variables (2, 10, 20, 30, 35 minutes), 1/10 de c. c. de solution d'oxalate sodique à 1 0/0. On constate ainsi que le plasma dilué non

4. Ce plasma interviendra fréquemment dans les expériences qui vont suivre. Pour le préparer, nous ajoutons à 1 partie de plasma salé à 5 0/0, 4 parties d'eau distillée, renfermant de l'oxalate neutre de soude en quantité telle que la teneur du mélange en ce sel soit égale à 1 0/00. A vrai dire, une dose notablement plus faible de l'agent décalcifiant peut déjà prévenir la coagulation; il suffit, pour que celle-ci n'apparaisse point, que le mélange du plasma salé avec l'eau distillée additionnée d'oxalate contienne 0,3 0/00 environ de ce sel.

additionné d'oxalate se coagule au bout de 40 minutes; la coagulation est à peine retardée dans le tube oxalaté 35 minutes après que le plasma dilué a été préparé. Mais les liquides oxalatés au bout de 2, 10, 20, 30 minutes restent indéfiniment liquides. Notons que le plasma oxalaté après 35 minutes présentait, au moment où le sel décalcifiant a été introduit, un léger début de coagulation, affectant la portion de plasma en contact avec la paroi, et dont l'oxalate, intervenant fort tardivement, n'a pu enrayer la propagation à la masse entière du liquide.

Il faut conclure de cette expérience que la production du fibrin-ferment dans le plasma salé, dilué par l'eau distillée, exige un temps assez prolongé, puisqu'on peut, en introduisant de l'oxalate au bout de 30 minutes, empêcher la coagulation d'un plasma qui, abandonné à lui-même, se serait coagulé au bout de 40 minutes. D'autre part, dès que le ferment apparaît, la solidification du plasma s'opère rapidement. Ceci est du reste en parfaite harmonie avec le fait suivant : si, à du plasma dilué qu'on vient de préparer (et qui ne se serait coagulé qu'au bout d'une demi-heure au moins), on ajoute un peu de sérum (1/10 environ) provenant d'une coagulation antérieure d'un plasma de même constitution, la prise en caillot s'effectue en quelques minutes.

Il était nécessaire d'avoir ces données préliminaires présentes à l'esprit, pour pouvoir aborder facilement l'étude de l'influence exercée sur le plasma dilué par le contact de corps solides mouillables, tels que le verre.

\*  
\* \*

Commençons par observer comment débute et se propage la coagulation du plasma dilué conservé dans un vase de verre et qu'on a soin de ne pas agiter. Comme nous l'avons dit plus haut, le plasma ne manifeste aucun changement pendant une demi-heure en moyenne. Mais un peu plus tard, on s'aperçoit que le plasma commence à devenir gélatineux au voisinage immédiat de la paroi; c'est même à l'endroit précis où le contact du verre doit influencer le plus activement le liquide, c'est-à-dire au niveau du ménisque concave limitant, contre la paroi, la surface du plasma, que la coagulation apparaît en tout premier lieu; à ce niveau, en effet, où le plasma s'élève en couche mince, un volume de plasma relativement faible adhère à une



étendue de paroi relativement grande. Peu après, l'intérieur du verre se tapisse entièrement de fibrine coagulée. Si, à ce moment, on renverse le vase, la plus grande partie du plasma, restée liquide, s'écoule, et l'on constate que la paroi est doublée d'un véritable sac gélatineux qui s'est moulé sur elle.

C'est donc contre la paroi que la coagulation débute. Le sac de fibrine formé s'épaissit graduellement, avec une certaine lenteur, et la solidification se propage ainsi jusqu'au centre de la masse de plasma.

Mais si la coagulation ne se propage pas très rapidement, de la paroi au centre, lorsque le vase est maintenu immobile, il n'en est plus de même quand le plasma est agité. Si, au moment où la coagulation vient d'apparaître contre la paroi, nous détachons au moyen d'une baguette de verre la portion solidifiée, et nous agitions le liquide, celui-ci se transforme rapidement en un bloc solide. Les choses se passent donc alors comme si nous mélangions du fibrin-ferment au plasma; il semble en d'autres termes que la portion de plasma qui a ressenti le contact du verre est devenue le siège de la production d'une certaine quantité de principe coagulant, qui provoque la prise en caillot totale dès qu'on le mélange intimement à la masse tout entière. Or, il est facile de démontrer qu'il y a là plus qu'une apparence : le contact du verre joue en effet un rôle actif dans la production même du fibrin-ferment.

\*  
\* \*

Préparons, dans un verre à pied dont les parois intérieures sont recouvertes d'une couche de paraffine, un certain volume de plasma dilué, en mélangeant une partie de plasma salé avec 4 parties d'eau distillée. Immédiatement après, versons la moitié environ du plasma dans un verre à pied enduit de paraffine, l'autre moitié dans un verre de même forme, mais non paraffiné. On constate dans cet essai, de la manière la plus frappante, la propriété que possède le plasma de se maintenir très longtemps liquide lorsqu'il ne subit d'autre contact que celui de la paraffine. Dans ces conditions, la coagulation toujours très retardée exige souvent plusieurs heures (parfois même 1 ou 2 jours), tandis qu'au contact du verre, elle s'opère en 30 ou 45 minutes.

A vrai dire, certains échantillons de paraffine donnent à ce

point de vue des résultats beaucoup meilleurs que d'autres. Pour que la paraffine agisse bien, il est nécessaire qu'elle ne se laisse aucunement mouiller par le plasma, et que celui-ci puisse rouler sur elle, sans adhérence, comme le mercure sur le verre. On doit remarquer à ce propos que le plasma mouille les objets beaucoup plus facilement que ne le fait l'eau pure; ainsi de nombreuses substances sur lesquelles l'eau glisse sans s'y attacher sont mouillées par le plasma; tels sont certains échantillons de paraffine, et l'on trouve alors que ceux-ci ne conviennent pas pour l'expérience que nous venons de décrire. Il est bon de mélanger par fusion la paraffine solide à une quantité assez forte (2 à 3 volumes) de paraffine ou vaseline liquide. On obtient ainsi une matière assez molle, onctueuse, qui possède à un haut degré les qualités requises.

Au reste, lorsqu'en vase paraffiné le plasma finit par se coaguler, on constate toujours que le processus commence par la paroi. La différence entre le contact du verre et celui de la paraffine n'est donc que relative; en d'autres termes, la paraffine ne possède pas d'une manière tout à fait complète les qualités que nous exigeons d'elle; on pourrait dire que son contact est « perçu par le liquide », mais beaucoup moins que celui du verre.

Le fait qu'un plasma dilué récemment préparé est conservé en vase paraffiné ne contrarie-t-il en rien l'influence du fibrin-ferment? Il est aisé de voir que l'addition de fibrin-ferment (sérum provenant d'une coagulation antérieure) provoque la coagulation très rapide du plasma contenu en vase paraffiné: Au point de vue de l'action du ferment, la paraffine ne joue aucun rôle.

Il faut donc admettre que c'est la production de ce principe coagulant qui fait défaut dans le plasma dilué conservé en paraffine. On peut d'ailleurs le démontrer par une expérience directe, en faisant intervenir, comme réactif du fibrin-ferment, le plasma dilué oxalaté. Ce dernier, on le sait, ne se coagule que par addition de fibrin-ferment, lequel peut du reste être lui-même oxalaté.

Répétons l'expérience précédente, qui consistait à répartir des quantités à peu près égales de plasma dilué (qu'on vient de préparer), dans deux verres à pied, l'un de ceux-ci étant garni intérieure-



rement d'une couche de paraffine. Attendons que, dans le verre non paraffiné, le revêtement de coagulum tapissant la paroi ait nettement apparu. A ce moment, introduisons dans ce plasma, dont la masse centrale est encore liquide, une baguette de verre, et agitions. On défibrine ainsi rapidement le plasma, toute la fibrine venant se coller à la baguette. Pour que tout soit comparable, imprimons, en même temps, les mêmes mouvements au plasma contenu en vase paraffiné (et qui ne présente aucune trace de coagulation), mais en nous servant cette fois d'une baguette de verre enduite de paraffine.

Dès que, dans le verre non paraffiné, la totalité du fibrinogène s'est séparée à l'état de fibrine concrète, prélevons de chacun des deux liquides 9/10 de c. c. que nous transportons dans deux tubes A et B contenant déjà 1/10 de c. c. de solution d'oxalate sodique à 1 0/0. Nos deux liquides (dont l'un, A, est devenu du sérum, dont l'autre, B, est encore du plasma) sont donc oxalatés à 1 0/00. Attendons quelques minutes, puis ajoutons à chacun des deux tubes 1 c. c. de plasma dilué oxalaté à 1 0/00. Le contenu du tube A se solidifie au bout de quelques minutes, celui du tube B reste indéfiniment liquide.

*Le contact avec un corps étranger tel que le verre, dont un caractère frappant est d'être mouillable, favorise donc activement la production du fibrin-ferment aux dépens du proferment. Cette influence s'observe en dehors de toute intervention d'éléments figurés.*

L'influence coagulante exercée sur le sang par le contact des corps étrangers, et que les expérimentateurs ont si fréquemment observée, peut donc s'expliquer sans qu'on soit forcé d'invoquer l'irritabilité cellulaire.

La tension superficielle peut, lorsqu'on multiplie les surfaces où elle s'exerce, agir à la façon d'un contact. Diluons du plasma salé avec la quantité voulue d'eau distillée. Dès que le mélange est obtenu, agitions pendant quelques instants ce plasma dilué de façon à y provoquer la formation de bulles qui donnent, à la surface du liquide, une mousse persistante. On constate que dans ces conditions la coagulation est très nettement accélérée et qu'elle débute par les bulles; la mousse devient en quelque sorte solide, se transformant en une gelée spongieuse, et bientôt la coagulation se propage au liquide sous-jacent.

## § II. RÔLE DES SELS DE CHAUX DANS LA PRODUCTION DU FIBRIN-FERMENT.

On admet généralement (à vrai dire, cette opinion n'est pas encore unanimement acceptée) que le pouvoir anticoagulant des oxalates est dû à ce que ceux-ci précipitent les sels calciques indispensables à la transformation du proferment en fibrin-ferment actif (Pekelharing). Ce qui interviendrait, ce ne serait donc pas une influence antagoniste appartenant en propre aux oxalates, ce serait simplement l'élimination de la chaux. Cette interprétation compte déjà, à son actif, des expériences démonstratives<sup>1</sup>, et cela nous dispensera de nous étendre longuement sur ce sujet.

Nous nous bornerons à signaler une expérience très simple, dans laquelle on ne fait intervenir aucune autre substance que le plasma, l'oxalate et l'eau, et qui, nous semble-t-il, corrobore d'une manière très positive l'idée de la nécessité des sels calciques pour la production du fibrin-ferment. Elle est fondée sur ce fait que la réaction entre les sels de chaux et l'oxalate s'effectue rapidement dans les liqueurs concentrées, s'opère au contraire lentement et incomplètement lorsque celles-ci sont fortement diluées.

Pour pouvoir se coaguler, notre plasma salé à 5 0/0 exige l'addition d'eau distillée. Mais si nous désirons lui faire perdre son aptitude à la coagulation en y ajoutant environ 1 0/00 d'oxalate sodique<sup>2</sup>, la dose voulue de ce sel peut être introduite soit avant, soit après la dilution par l'eau distillée. Or, on obtient des résultats très différents suivant le moment auquel on fait intervenir l'agent-décalcifiant.

A 5 c. c. de plasma salé, ajoutons 1 c. c. de solution physiologique contenant 0, 75 0, 0 de NaCl et dans laquelle on a fait dissoudre 0, 5 0/0 d'oxalate sodique. Il se produit rapidement un trouble intense d'oxalate calcique. Introduisons alors dans le mélange 20 c. c. d'eau distillée; malgré cette dilution, le trouble dû à l'oxalate calcique se perçoit encore très visiblement.

1. Par exemple, si l'on prépare du sang oxalaté à 1 0/00, et qu'on y ajoute ensuite 2 0/00 de chlorure de magnésium, on constate que le liquide se coagule par addition de traces de sels calciques, insuffisantes à précipiter l'excès d'oxalate; cela tient à ce que, en présence de chlorure de magnésium, des traces de sels de chaux ne précipitent point l'oxalate. Cette expérience est due à Arthus.

2. Environ 1 0/00 par rapport au volume du plasma salé, et non pas relativement au volume total (plasma salé + eau distillée).



D'autre part, à 5 c. c. de plasma salé, ajoutons d'abord 20 c. c. d'eau distillée; puis, immédiatement après, 1 c. c. de la solution d'oxalate. Le liquide reste limpide; il faut en conclure que grâce à la dilution, la précipitation de la chaux par l'oxalate ne peut s'opérer.

Or, le premier mélange ne se coagule jamais. Dans le second, la coagulation s'effectue au bout d'un temps un peu plus long que si l'on n'avait pas ajouté d'oxalate, mais le retard n'est pas considérable. Et pourtant, des deux liquides, c'est celui où la coagulation s'opère qui contient le plus d'oxalate, puisque dans ce liquide il ne s'est point fait de précipitation de l'oxalate par la chaux. L'oxalate ne gêne donc point la coagulation si l'on s'arrange pour qu'il n'insolubilise pas les sels calciques. Il est presque superflu d'ajouter que le premier mélange, qui conserve tel quel, se maintient liquide, se coagule par addition d'une trace de chlorure calcique. D'autre part, on peut naturellement précipiter par l'oxalate la chaux du plasma, même après avoir dilué ce dernier dans l'eau distillée, et obtenir ainsi le plasma dilué oxalaté incoagulable employé dans certaines expériences citées plus haut<sup>1</sup>. Mais il faut alors introduire une dose d'oxalate plus élevée, capable de précipiter les sels calciques au bout d'un temps assez court.

---

1. Rappelons que ce plasma contenait de l'oxalate à dose de 1 0/00 par rapport au volume total (plasma salé + eau distillée).

# Le passage du Virus rabique à travers les filtres.

PAR LE D<sup>r</sup> REMLINGER

Directeur de l'Institut Impérial de bactériologie, à Constantinople.

Il est classique de dire que le virus rabique est retenu par les filtres et d'en conclure que l'agent pathogène de la rage doit être un agent figuré. L'accord cesse lorsqu'il s'agit d'établir quel est cet agent : bacilles de Bruschetini, Saccharomyces de Lévy, protozoaires de Negri, de Guarnieri, etc. pour ne citer que les plus récents. En effet, Nocard en 1880, Paul Bert en 1882 font passer à travers du plâtre de la salive d'animaux enragés et constatent l'innocuité du filtrat. En 1889, de Blasi et Russo-Travali filtrent à travers la bougie Chamberland des émulsions de cerveau de lapin ayant succombé au virus fixe. En les inoculant ensuite à des chiens à doses élevées, ils voient ces animaux succomber au milieu de phénomènes cachectiques et paralytiques rappelant beaucoup la rage, mais le bulbe inoculé se montre inactif, et les auteurs expliquent par l'existence d'une toxine rabique les phénomènes observés. C'est également à cette conclusion que se range Babès à la suite d'expériences analogues entreprises avec les bougies Chamberland, Kitasato et d'Arsonval. Tout récemment, Guarnieri constate l'innocuité des filtrats Chamberland et Kitasato, et tire de là un argument en faveur de la nature pathogène de son sporozoaire. L'opinion, on le voit, est unanime : *Le virus rabique ne traverse pas les filtres*. Le but du présent travail est précisément de démontrer l'inexactitude de cette proposition, et d'établir qu'au rebours de l'opinion classique le virus rabique *traverse les filtres...* ou du moins certains filtres. Nous examinerons ensuite quelles conclusions on peut tirer de ce fait au point de vue de la nature de l'agent pathogène de la rage.

## I

L'INOCULATION SOUS-DURE-MÉRIENNE DU VIRUS RABIQUE FILTRÉ DONNE LA RAGE AU LAPIN.

Le virus rabique, filtré à travers les bougies Chamberland B ou F, s'est toujours montré inactif, ainsi que le fait avait été bien vu avant nous. Nous n'avons même jamais observé avec



cette bougie les phénomènes cachectiques et paralytiques signalés par de Blasi et Russo-Tavali. Il est vrai que nous inoculons de petites quantités de virus sous la dure-mère du lapin et non, comme ces auteurs, des doses massives sous la peau du chien. Cette dernière façon de procéder est évidemment plus favorable à l'observation des phénomènes d'origine toxinique... Nous nous sommes donc servi exclusivement de bougies Berkefeld, filtres siliceux en terre d'infusoires, comme chacun sait. Ces bougies constituent 3 cribles différents. Suivant qu'elles sont très perméables à l'eau, moyennement ou peu perméables, on les désigne par les lettres V (abréviation pour *Viel*, « qui donne beaucoup d'eau ») N (normal) et W (abréviation pour *Wenig*, « qui donne peu d'eau »). Pour chacune de ces trois perméabilités, il existe des dimensions différentes, numérotées de 1 à 16. Nous avons fait exclusivement usage de bougies cylindriques mesurant 5 centimètres de long sur 2 centimètres  $1/2$  de large. Les bougies N et W se comportent vis-à-vis du virus rabique comme les bougies Chamberland. Elles ne se laissent pas traverser. A moins d'indication spéciale, c'est toujours de la bougie V qu'il s'agit dans ce qui va suivre. Stérilisée à l'autoclave par un séjour de 20 minutes à  $115^{\circ}$ , puis mise en rapport avec la trompe, cette bougie, tout au moins dans la majorité des cas, ne laisse passer aucun microbe. Mais il faut pour cela :

1° Que la filtration soit rapide, extemporanée en quelque sorte;

2° Que la bougie soit neuve.

En cas de filtration prolongée, la bougie V devient un filtre imparfait. De même une bougie qui, ayant servi une première fois, a dû ensuite être régénérée, court le risque de laisser passer des germes. D'où l'obligation d'employer à chaque nouvelle expérience une bougie neuve.

Comme test, nous avons fait usage de l'eau de conduite du laboratoire. Cette même eau, riche en microbes variés et particulièrement en vibrions très fins et très mobiles, avait déjà servi à M. M. Nicolle au cours de ses remarquables recherches sur la filtration du virus pestique. Elle a été signalée par lui comme un indicateur excellent. Après chaque expérience, le filtrat étaitensemencé, à des doses variant de quelques gouttes à plusieurs centimètres cubes, dans 12 tubes de bouillon, dont 6 étaient

mis à l'étuve à 37° et 6 autres laissés à la température de la chambre. Il va de soi qu'il sera tenu compte exclusivement des expériences où, 15 jours après l'ensemencement, aucun de ces 12 tubes ne s'était troublé. Par surcroît de précautions, comme nous opérons sur le lapin, éminemment réceptif au très petit microorganisme qu'est la pasteurellose aviaire, l'émulsion à filtrer était additionnée chaque fois de quatre à cinq cultures en bouillon de choléra des poules virulent...

Toutes les expériences ont été faites avec le virus fixe, avec le cerveau des lapins dont la moelle était utilisée d'autre part pour le traitement antirabique... Systématiquement au début des recherches, par la suite chaque fois que se présentait la moindre anomalie, le diagnostic de rage était assuré par des passages sous-dure-mériens. C'est dans ces conditions, à l'abri, semble-t-il, des causes d'erreur qu'ont été obtenus les résultats suivants :

*Expérience I*<sup>1</sup>. — Le 16 avril 1903, le cerveau d'un lapin ayant succombé au virus fixe est trituré à l'aide d'une baguette de verre, et converti en une pulpe fine à laquelle on incorpore peu à peu 200 grammes d'eau de conduite. On ajoute 4 tubes de bouillon d'une culture virulente de choléra des poules, et on filtre par aspiration à travers Berkefeld V. Le filtrat est ensemencé dans 12 tubes de bouillon et, d'autre part, inoculé à la dose de 1/8 à 1/4 de centimètre cube sous la dure mère de 11 lapins.

2 lapins meurent accidentellement : le premier le 20, le deuxième le 22 avril. Les préparations et ensemencements pratiqués avec le sang du cœur, les pulpes hépatique et splénique ne dénotent la présence d'aucun microorganisme. En particulier, aucune pasteurellose.

Le 26 avril (10<sup>e</sup> jour) un 3<sup>e</sup> lapin présente un commencement de paralysie des membres antérieurs. Le 27, rage paralytique classique. Mort dans la nuit du 27 au 28. On fait un passage avec le bulbe. Le lapin pris le 10<sup>e</sup> jour succombe le 12<sup>e</sup>, et la rage est ensuite transmise régulièrement de lapin à lapin à l'aide de ce virus. Le 1<sup>er</sup> mai (15<sup>e</sup> jour), un 4<sup>e</sup> lapin présente des phénomènes paralytiques ne différant en rien de ceux de la rage ordinaire. Il meurt le surlendemain. Le bulbe sert à faire un passage chez 2 lapins. Ceux-ci sont pris le 12 mai (9<sup>e</sup> jour) et succombent le 14. Un nouveau passage fournit un résultat identique.

7 lapins sont demeurés indemnes.

Les ensemencements sont restés stériles aussi bien à 37° qu'à 22°.

*Expérience II*. — Le 12 mai 1903, le cerveau d'un lapin ayant succombé

<sup>1</sup> Cette expérience et les deux suivantes ont fait l'objet de communications à la Société de biologie aux séances du 13 juin et du 11 juillet 1903. Les filtrations ont été faites avec l'aide du Dr Riffat-Bey, que nous remercions de son utile concours.



au virus fixe est pilé dans un mortier et converti en une pulpe extrêmement fine. On lui incorpore très lentement 200 grammes d'eau de conduite, et on obtient de la sorte une émulsion plus ténue et plus homogène que dans l'expérience précédente. On ajoute 4 tubes de bouillon d'une culture virulente de choléra des poules, et on filtre à travers Berkefeld V. Le filtrat est inoculé après trépanation sous la dure-mère de 10 lapins, mais cette fois à la dose de  $1/4$  à  $1/2$  c. c.

Aucun lapin ne succombe accidentellement ou du fait du choléra des poules.

Un 1<sup>er</sup> lapin présente le 29 mai (11<sup>e</sup> jour) une paralysie classique, et meurt le 31. Passage chez 2 lapins. Ceux-ci pris le 8 juin (8<sup>e</sup> jour) succombent le 10.

Un 2<sup>e</sup> et un 3<sup>e</sup> lapin, pris le 30 mai (12<sup>e</sup> jour), meurent le 1<sup>er</sup> juin. Ici encore les passages viennent confirmer le diagnostic de rage.

Enfin, un 4<sup>e</sup> lapin pris le 30 mai comme les 2 précédents, meurt comme eux le 1<sup>er</sup> juin. Les symptômes étant identiques, on juge inutile de faire un passage.

6 lapins sont demeurés indemnes. Les ensemencements du filtrat à 37° ou à 22° sont demeurés stériles.

*Expérience III.* — Le 11 juin, le cerveau d'un lapin ayant succombé au virus fixe est pilé au mortier et converti en une pulpe très fine. Cette pulpe est incorporée peu à peu à 300 grammes d'eau de conduite. On ajoute 4 tubes de bouillon d'une culture virulente de choléra des poules. Le tout est filtré au travers d'une bougie Berkefeld V, neuve et stérilisée à l'autoclave. La filtration est opérée rapidement par aspiration à la trompe, et le filtrat (stérile d'après les ensemencements) est inoculé à la dose de  $1/2$  à 1 c. c. sous la dure-mère de 8 lapins.

Le 20 juin, 1 de ces lapins présente de l'anorexie et de la tristesse. Le 21, commencement de paralysie des membres postérieurs. Le 22, la rage paralytique est classique. Mort le 23 (12<sup>e</sup> jour). Le bulbe est inoculé sous la dure-mère de 3 lapins. Tous succombent à la rage dans les délais habituels.

Le 22 juin, début de la paralysie chez un 2<sup>e</sup> lapin. Mort le 24 (13<sup>e</sup> jour). Il est fait 2 passages. L'un et l'autre confirment le diagnostic de rage.

Le 21 juin (10<sup>e</sup> jour), un 3<sup>e</sup> lapin montre de la tristesse, de la somnolence, de l'anorexie, et on croit qu'il va prendre la rage. De fait, le lendemain, il présente un commencement de paralysie des membres antérieurs. Il est trouvé mort le 23 au matin. L'autopsie est immédiatement pratiquée. Néanmoins, les organes et en particulier le système nerveux sont déjà dans un état de décomposition avancée. Les lapins inoculés par voies sous dure-mérienne succombent prématurément à une infection des méninges par le staphylocoque et le coli-bacille. 2 lapins inoculés sous la peau avec 5 c. c. d'émulsion chacun ont présenté aucune modification pathologique. Nous nous expliquerons dans un instant sur l'interprétation dont paraissent justiciables ces phénomènes.

La relation d'expériences plus nombreuses serait sans intérêt. Toutes se trouvent en quelque sorte calquées sur les précédentes.

Dans les 3 faits relatés, sur 29 lapins inoculés, 3 ne doivent pas entrer en ligne de compte, 8 ont pris la rage (30,76 0/0), 18 sont demeurés indemnes (69,23 0/0). Cette proportion de 30 0/0 se retrouve à peu près identique dans la majorité des expériences. Mais de même que nous avons insisté sur les précautions qu'il convient de prendre pour ne retenir que les faits bien légitimes de passage du virus à travers la bougie (bougie neuve — filtration extemporanée — usage comme test d'eau de conduite et de culture de choléra des poules), de même nous devons indiquer les conditions qu'il est nécessaire de remplir si on veut observer ce passage même :

1<sup>o</sup> Il faut opérer sur un cerveau de lapin entier qu'on triturera dans un mortier à l'aide d'un pilon, de façon à convertir la substance nerveuse en une pulpe extrêmement fine. A cette pulpe on incorporera très lentement, goutte à goutte pour ainsi dire, de 300 à 400 grammes d'eau de conduite. Cette façon de procéder est indispensable pour l'obtention d'une émulsion homogène, bien exempte de grumeaux.

2<sup>o</sup> Le filtrat doit être inoculé sous la dure-mère du lapin à raison non pas de quelques gouttes, mais de 1/2 à 1 c. c. par tête d'animal. L'injection étant poussée lentement, progressivement, il ne s'ensuit de troubles d'aucune sorte.

3<sup>o</sup> Il est nécessaire d'opérer chaque fois sur un nombre assez élevé de lapins, une dizaine, par exemple<sup>1</sup>.

La proportion des animaux qui prennent la rage dans ces conditions se rapproche le plus souvent de 30 0 0. Mais il faut noter qu'il existe parfois, d'une bougie V à une autre, des variations de porosité assez considérables, et qu'en rapport avec ces variations, on peut observer un chiffre d'atteintes, beaucoup moindres comme aussi bien plus élevé. Les expériences suivantes en font foi :

*Expérience I.* — Le 5 septembre, un cerveau de lapin est converti en une pulpe fine, et incorporé à 300 grammes d'eau de conduite. L'émulsion filtrée à travers Berkfeeld V est inoculée à la dose de 1/2 à 1 c. c. sous la dure-mère de 10 lapins. Le 17 septembre (12<sup>e</sup> jour), l'un de ces animaux com-

1. Tous nos lapins étaient du poids de 1,500 grammes ou à peu près. Pour aller vite, lorsqu'on doit inoculer un grand nombre d'animaux, on peut se servir de jeunes lapins, chez lesquels la fontanelle antérieure n'est pas encore ossifiée. L'aiguille de la seringue pénètre directement sous la dure-mère, sans le secours de trépan, de foret d'aucune sorte, et les inoculations se font avec une grande rapidité.



mence à présenter les symptômes de la rage paralytique. Il meurt le 18. 9 lapins sont demeurés indemnes. Proportion des atteintes : 10/100.

*Expérience II.* — Le 22 août, un cerveau de lapin est converti en une pulpe fine à laquelle on incorpore 300 grammes d'eau de conduite. On filtre à travers Berkefeld V et on inocule le filtrat à la dose de 1/2 à 1 c. c. sous la dure-mère de 10 lapins. 12 tubes de bouillon copieusementensemencés demeurent stériles, les uns à la température de l'étuve, les autres à celle du laboratoire. 2 lapins contractent la rage le 2 septembre et meurent le 4. 3 autres pris le 3 meurent le 5. 5 lapins (exactement la moitié) sont restés indemnes. Proportion des atteintes : 50/100.

*Expérience III.* — Le 3 août, à l'occasion d'une expérience de centrifugation dont il est parlé plus loin, 30 lapins reçoivent sous la dure-mère de 1 2 à 1 c. c. de virus rabique filtré. Ensemencements demeurés stériles à 37° et à 22°. Du 14 au 17 août, 23 lapins ont succombé à la rage. 2 seulement sont demeurés indemnes. Des passages ont été faits avec le bulbe de 2 animaux pris les premiers (au 10<sup>e</sup> jour, mort au 12<sup>e</sup>) et des 2 pris les derniers (au 12<sup>e</sup> jour, mort au 14<sup>e</sup>). Rage classique dans l'un et dans l'autre cas. Proportion des atteintes : 93 0/0.

Sans qu'aucune faute de technique doive être incriminée, on peut donc, avec Berkefeld V, voir succomber la moitié et plus des animaux inoculés.

De ce fait, il faut rapprocher le suivant, que la bougie V ne donne pas exactement la limite de perméabilité des filtres Berkefeld au virus rabique. La maison Berkefeld a bien voulu nous livrer des bougies à perméabilité intermédiaire à V et à N. Nous les désignerons par les lettres V' et V". Or, nous avons constaté que le virus était arrêté par V", mais traversait V'.

Le 9 juillet, un cerveau de lapin est incorporé à 300 c. c. d'eau distillée. On filtre à travers Berkefeld V' et on inocule à la dose de 1/2 à 1 c. c. sous la dure-mère de 10 lapins. Résultat des ensemencements : négatif. Le 20 juillet (11<sup>e</sup> jour), 2 lapins présentent les premières manifestations de la rage et succombent le surlendemain. Leur bulbe sert à faire des passages dans le cerveau d'autres lapins. Résultat positif. 8 animaux sont demeurés indemnes.

La même expérience est répétée dans des conditions identiques avec V". Aucun des 10 lapins inoculés n'a contracté la maladie.

Nous nous sommes demandé si, en diluant un cerveau entier dans 300 c. c. d'eau, nous ne filtrions pas à travers la bougie une émulsion trop épaisse, susceptible de colmater les

parois et de s'opposer, au bout de peu de temps, au passage du virus. On sait que le degré de la dilution a une influence marquée sur le passage à travers les filtres des virus de la péri-pneumonie, de la Horse-Sickness..., etc.

Nous n'avons rien observé d'analogue avec le virus rabique. Avec la bougie V, la proportion des animaux atteints n'a pas varié sensiblement suivant l'étendue de la dilution, et, de même, nous ne sommes jamais parvenu, en diluant l'émulsion, à faire traverser au virus rabique les bougies Berkefeld N ou Chamberland F. Il est probable qu'un moyen efficace de triompher de la résistance de la bougie N à se laisser traverser par le virus rabique eût été d'user ses parois de façon à en diminuer l'épaisseur. Toutefois, nous n'avons pas répété cette expérience réalisée, comme on sait, par M. Nicolle avec le virus pestique. De même, le virus claveleux ne passe jamais à la bougie Chamberland F. Il passe, par contre, presque toujours aux bougies F<sup>4</sup>, F<sup>5</sup>... F<sup>10</sup> débitant 4, 5... 10 fois plus que les bougies F (Borrel). Le virus rabique se comporte très probablement de façon analogue. Mais nous n'avons pas été à même de le vérifier.

Une particularité constante dans la transmission de la rage à l'aide de virus filtré, c'est le prolongement de la période d'incubation. Chez les lapins de passage, c'est toujours du 8<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour que les premiers symptômes de la maladie font leur apparition. La mort survient du 9<sup>e</sup> au 12<sup>e</sup>. Chez les lapins inoculés avec le virus filtré, on n'observe jamais de période d'incubation inférieure à 10 jours. La grande majorité des animaux est prise le 11<sup>e</sup>, quelques-uns le 12<sup>e</sup> jour. Nous avons observé une incubation de 13 jours et une autre de 14. La mort survient en général du 12<sup>e</sup> au 14<sup>e</sup> jour. On le voit, la durée de la maladie est la même, qu'il s'agisse de virus fixe ou de virus filtré. La durée de l'incubation diffère seule. Cette prolongation est évidemment en rapport avec le petit nombre de germes inoculés sous la dure-mère avec le filtrat. Dès le 1<sup>er</sup> passage, l'incubation revient à la normale : 8 à 10 jours. Il est intéressant de faire remarquer que le même allongement de l'incubation s'observe chez les individus inoculés avec du sérum filtré d'amarillique. Cette incubation fut de 10 jours dans une expérience de Parker, Beyer et Pothier, et, très probablement, de 8 (au lieu de 2 à 5) dans un cas de Reed et Carroll<sup>1</sup>.

1. Voyez *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1903, n° 15, page 538.

Il nous reste à dire un mot des faits suivants. Nous les avons observés 5 fois seulement sur un total de plus de 200 inoculations sous-dure-mériennes de virus filtré, mais ils se sont toujours présentés si parfaitement identiques à eux-mêmes que la possibilité d'un hasard ou d'une coïncidence s'en trouve exclue. Le lapin qui a reçu sous la dure-mère du virus filtré à travers Berkefeld V ne présente, pendant 10 jours, aucune modification pathologique. Le 10<sup>e</sup> ou le 11<sup>e</sup> jour, il montre de la tristesse, de la somnolence, de l'anorexie, et on croit qu'il va prendre la rage. De fait, le lendemain, un commencement de paralysie des membres antérieurs ou postérieurs vient confirmer ce diagnostic. Cependant, alors que la durée moyenne de la rage expérimentale est de 2 jours, quelques heures après l'apparition de cette paralysie, l'animal se couche sur le côté et il ne tarde pas à succomber. L'autopsie, immédiatement pratiquée, révèle déjà un commencement de ramollissement du système nerveux, et les ensemençements pratiqués avec le cerveau, le sang du cœur, la pulpe splénique et hépatique dénotent un envahissement hâtif par des microbes d'infection agonique, le staphylocoque et le coli-bacille en particulier. Les lapins inoculés sous la dure-mère avec une émulsion du bulbe, succombent le lendemain ou le surlendemain au milieu de phénomènes méningitiques. Ceux qui ont été inoculés sous la peau avec des doses considérables : 5 à 10 c. c. d'émulsion nerveuse, ne présentent de réaction locale ni générale d'aucune sorte, et demeurent tout à fait indemnes.

Dans l'appréciation de ces faits, il paraît juste de tenir compte des particularités suivantes :

a) Ils se produisent constamment après une période d'incubation identique à celle de la rage ;

b) Leur physionomie clinique rappelle beaucoup cette affection ;

c) Dans la même série d'expériences, d'autres animaux présentent une rage véritable, ainsi que les passages en font foi.

Sans doute, chez le lapin, la rage expérimentale ne déroule pas nécessairement son cortège classique. La mort peut se produire après une courte période de paralysie ; elle peut même survenir subitement. Néanmoins, devant la constance des résultats expérimentaux négatifs, il paraît impossible d'attribuer à la rage même les symptômes qui viennent d'être décrits. Il semble



plus logique de les attribuer à la toxine rabique qui, exceptionnellement, pourrait traverser Berkefeld V, indépendamment du virus, et qui jouirait de la propriété de favoriser l'envahissement de l'organisme par les microbes agoniques. Contre cette hypothèse, nous devons cependant ajouter que nous n'avons jamais observé de phénomènes analogues, soit chez les lapins inoculés sous la dure-mère avec des filtrats Berkefeld N, W ou Chamberland F, soit chez les animaux ayant reçu sous la peau des doses massives de filtrat V, N ou W au cours des expériences qu'il nous reste à relater.

## II

### L'INOCULATION SOUS-CUTANÉE DE VIRUS FILTRÉ IMMUNISE LE LAPIN CONTRE LA RAGE

Le lapin est beaucoup moins réceptif à la rage par la voie sous-cutanée que par la voie sous dure-mérienne. Si on lui injecte sous la peau une petite quantité de virus, il ne contracte pas la maladie, et il acquiert de ce fait un certain degré de résistance qui pourra devenir une immunité complète, si les inoculations sont répétées à doses croissantes, convenablement choisies et espacées. De même, si, à doses croissantes, on injecte sous la peau d'un lapin du virus filtré à travers Berkefeld V, l'animal ne prend qu'exceptionnellement la rage. Nous avons observé le fait une seule fois. Encore était-ce au début de nos expériences, alors que nous n'avions pas acquis dans le maniement des doses une habileté suffisante. Au fur et à mesure que les quantités inoculées augmentent, l'animal acquiert vis-à-vis du virus rabique une plus grande résistance. Lorsque la dose totale injectée sous la peau approche de 500 c. c., il est complètement immunisé<sup>1</sup>, et supporte sans la moindre réaction l'épreuve sévère de l'inoculation sous-dure-mérienne avec le virus fixe.

*Expérience.* Un 1<sup>er</sup> lapin reçoit sous la peau, du 21 mars au 16 avril 1903, 65 c. c. de virus filtré à travers Berkefeld V. Le 18 avril il est trépané et inoculé sous la dure-mère avec le virus fixe. Les premiers symptômes de la rage font leur apparition le 26 (au 8<sup>e</sup> jour) et la mort survient le 29 (1<sup>er</sup> jour). Un lapin témoin est pris et meurt dans les mêmes conditions.

1. Poids de tous les lapins dont il est question dans ce paragraphe : 1,500 grammes.

## PASSAGE DU VIRUS RABIQUE A TRAVERS LES FILTRES 843

Un 2<sup>e</sup> lapin a reçu sous la peau, du 9 avril au 4 mai, 140 c. c. de virus filtré. Le 7 mai, inoculation sous-dure-mérienne. Le 16 mai au soir (9<sup>e</sup> jour) on note un commencement de paralysie du train postérieur. Le lendemain, l'état de l'animal est stationnaire : la paralysie ne semble pas avoir progressé. Le 18 mai, la paralysie s'accuse davantage. Amaigrissement considérable. Le 19, le lapin est couché sur le côté. Mort le 20, au 13<sup>e</sup> jour, après 5 jours de maladie — Deux témoins ont été pris l'un le 15, l'autre le 16 mai, et sont morts le 1<sup>er</sup> le 17, le 2<sup>e</sup> le 18 (10<sup>e</sup> et 11<sup>e</sup> jour).

Un 3<sup>e</sup> lapin a reçu dans les mêmes conditions du 9 avril au 10 mai, 200 c. c. de virus filtré. Il est trépané le 11. Le 26 mai (12 jours après l'inoculation), l'animal est très bien portant et on se demande s'il ne résistera pas (un témoin pris le 23 était mort le 25) lorsque le 27, on s'aperçoit d'un début d'amaurose. L'animal continue à s'alimenter. Le 28 (14<sup>e</sup> jour) il est tout à fait aveugle et on note un commencement de paralysie des membres postérieurs. Le 29, la rage paralytique paraît manifeste. Mort le 30 (16<sup>e</sup> jour). A l'autopsie, émaciation considérable, mais aucune lésion d'organe. Un lapin inoculé sous la dure-mère avec une émulsion du bulbe ne prend pas la rage. Un mois plus tard, ce même animal était trépané à nouveau avec du virus fixe et succombait cette fois dans les délais ordinaires. Il était donc réceptif<sup>1</sup>.

Un 4<sup>e</sup> lapin reçoit sous la peau, du 21 mars au 6 juin 1903, 500 c. c. de virus rabique filtré à travers Berkefeld V. La progression a été la suivante :

12 mars, 10 c. c. ; 28 mars, 10 c. c. ; 9 avril, 15 c. c. ; 16 avril, 20 c. c. ; 20 avril, 20 c. c. ; 30 avril, 40 c. c. ; 4 mai, 40 c. c. ; 10 mai, 60 c. c. ; 16 mai, 65 c. c. ; 21 mai, 70 c. c. ; 30 mai, 70 c. c. ; 6 juin, 80 c. c. Total : 500 c. c.

Le 12 juin, il est trépané avec du virus fixe. Alors que deux témoins succombent dans les délais classiques, il ne présente aucun symptôme pathologique. Une 2<sup>e</sup> trépanation est également demeurée sans résultat.

Il est donc possible — à l'aide d'injections sous-cutanées de virus filtré à travers Berkefeld V — d'immuniser complètement le lapin vis-à-vis de l'injection intra-cérébrale de virus fixe. Ce fait constituera une nouvelle preuve de la traversée de la bougie V par le virus rabique, s'il est démontré que cette immunité n'est due ni à des cadavres microbiens, ni à une toxine. Or, cette démonstration résulte des deux constatations suivantes :

1<sup>o</sup> L'injection sous-cutanée de virus filtré à travers Berkefeld W ne confère aux lapins aucune immunité ;

1. Nous avons eu l'occasion d'observer récemment un lapin complètement réfractaire à la rage. Cet animal — acheté quelques jours auparavant au marché de Stamboul — est trépané le 22 février pour les besoins de l'Institut antirabique, et ne présente consécutivement aucun symptôme morbide. Il est préparé à nouveau le 14 avril. Même absence de réaction. 3<sup>e</sup> trépanation (cette fois extrêmement sévère) le 9 mai. Toujours pas de réaction.

2° La stérilisation par l'éther fait perdre au virus filtré à travers V ses propriétés immunisantes.

1° *L'injection sous-cutanée de virus filtré à travers Berkefeld W ne confère aux lapins aucune immunité.*

*Expérience I.* — Du 2 juillet au 14 septembre, 2 lapins reçoivent sous la peau chacun 500 c. c. de virus rabique filtré à travers la bougie Berkefeld W. Le 17 septembre, ces animaux sont trépanés à l'aide de virus fixe. L'un d'eux est pris le 26 septembre et meurt le 27 (10<sup>e</sup> jour). Le second, pris le 27, meurt le 28 (11<sup>e</sup> jour).

Le 17 septembre également, on trépane avec le même virus et dans des conditions identiques un lapin qui, du 27 juin au 15 septembre, avait reçu sous la peau 500 c. c. de virus rabique filtré à travers Berkefeld V. Cet animal n'a présenté aucun symptôme pathologique.

*Expérience II.* — Du 2 juillet au 24 septembre, un lapin reçoit sous la peau 700 c. c. de virus rabique filtré à travers Berkefeld W.

Du 27 juin au 24 septembre, un second lapin reçoit sous la peau 500 c. c. de virus filtré à travers Berkefeld V. Ces animaux sont trépanés à l'aide du virus fixe le 26 septembre. Le premier présente à la date du 5 octobre (9<sup>e</sup> jour) les symptômes caractéristiques de la rage paralytique et succombe le surlendemain. Le second (500 c. c. de virus V) n'a montré du 8<sup>e</sup> au 12<sup>e</sup> jour après l'inoculation aucun phénomène pathologique. Il est encore actuellement vivant et bien portant.

2° *La stérilisation par l'éther fait perdre au virus filtré à travers la bougie V ses propriétés immunisantes.*

*Expérience I.* — Un cerveau de lapin ayant succombé au virus fixe est converti dans un mortier en une pulpe très fine et incorporé à 300 c. c. d'eau de conduite. L'émulsion obtenue est filtrée à travers Berkefeld V. Le filtrat, versé dans un flacon stérile, est additionné d'un égale quantité d'éther sulfurique, et on laisse 24 heures en présence en ayant soin d'agiter de temps en temps. Au bout de 24 heures, l'éther est évaporé au moyen d'une cloche à vide, et le filtrat injecté à doses progressivement croissantes sous la peau de deux lapins. Du 11 août au 24 septembre, ces 2 animaux reçoivent de la sorte 500 c. c. de virus filtré à travers V, puis traité par l'éther. La progression a été la suivante :

11 août, 15 c. c.; 19 août, 40 c. c.; 27 août, 40 c. c.; 3 septembre, 80 c. c.; 7 septembre, 100 c. c.; 17 septembre, 120 c. c.; 24 septembre, 105 c. c.  
Total : 500.

Le 26 septembre, trépanation avec le virus fixe. Un 3<sup>e</sup> lapin ayant reçu dans le même espace de temps 500 c. c. de virus filtré à travers V, mais non stérilisé, sert de témoin. Cet animal n'a présenté aucun symptôme de rage. Les deux autres ont été pris le 4 octobre (8<sup>e</sup> jour) et sont morts le 6.

Il résulte de ces expériences une nouvelle preuve du passage du virus à travers la bougie V. Le virus filtré immunise le



lapin contre la rage. Or, cette immunisation n'est le fait ni de cadavres microbiens ni de toxine, puisqu'elle ne se produit ni avec le filtrat W, ni avec le virus stérilisé par l'éther. Il reste qu'elle soit causée par le virus rabique lui-même. Donc ce virus traverse V. C'est la corroboration des faits produits dans la première partie de ce travail.

### III

#### L'AGENT PATHOGÈNE DE LA RAGE EST UN ORGANISME ULTRA-MICROSCOPIQUE

Des faits que nous venons de relater, quelles déductions peut-on tirer au point de vue de la nature du virus rabique? S'il est démontré que ce virus traverse la bougie Berkefeld dans des conditions où elle retient les autres microorganismes, il s'ensuit que l'agent pathogène de la rage ne saurait être un microbe qui, de dimensions analogues à celles des microbes pathogènes ordinaires, se déroberait à l'investigation... grâce à des réactions spéciales vis-à-vis des matières colorantes, par exemple. Il semble dès lors que les seules hypothèses à discuter se réduisent à trois :

a) L'agent pathogène de la rage est un sporozoaire visible;  
 b) Le virus rabique est un *contagium vivum fluidum* (Beijerinck);

c) La rage est causée par un organisme ultra-microscopique.

a) *A priori*, l'hypothèse d'un sporozoaire visible paraît peu compatible avec la constatation du passage d'un virus à travers une bougie filtrante. Cependant M. Bosc<sup>1</sup> a émis l'opinion que les parasites de la clavelée « dont les formes de division visibles peuvent ne mesurer que  $1/2 \mu^2$ , doivent à leur structure plasmodiale de pouvoir s'étirer à travers les pores des bougies comme à la filière » et par conséquent de passer à travers les filtres. Il ne semble pas que, tout au moins pour la rage, cette hypothèse soit admissible. En effet, si le virus rabique

1. Bosc, *Épithélioma claveleux du poumon*. Société de Biologie, séance du 2 mai 1903, page 537.

2. On sait qu'avec les meilleurs instruments, nous ne pouvons distinguer un corpuscule de moins de  $0\mu,1$ .

filtré doit ses propriétés à un parasite de 0 $\mu$ ,5 de diamètre, ce parasite centrifugera facilement, et les inoculations comparées avec le culot et le filtrat superficiel donneront des résultats très différents. Or il n'en est rien, comme le montrent les expériences suivantes.

*Expérience I.* — Le 13 juillet, un cerveau de lapin est réduit en pulpe et incorporé à 400 c. c. d'eau de conduite. On filtre à travers Berkefeld V et une partie de ce filtrat est centrifugée pendant 1 heure à l'aide de l'appareil de Kraüs. 7 lapins reçoivent sous la dure-mère du virus non centrifugé, 7 autres reçoivent la partie supérieure du filtrat contenu dans les godets et 7 autres la partie inférieure, la partie moyenne du liquide ayant été rejetée. Les lapins du 2<sup>e</sup> groupe sont tous demeurés indemnes. Dans chacune des 2 autres séries, 1 animal a contracté la rage. Il est à noter que les 2 lapins inoculés avec les dernières gouttes des godets à centrifugation ont échappé à la maladie.

*Expérience II.* — Le 3 août, un cerveau de lapin est incorporé de même à 300 c. c. d'eau distillée et l'émulsion est filtrée à travers Berkefeld V. Une partie du filtrat est centrifugée pendant 1 heure 1/4 à l'appareil de Kraüs, puis 30 lapins sont inoculés sous la dure-mère, 10 avec du virus non centrifugé, 10 avec le virus centrifugé superficiel, 10 avec le virus centrifugé profond. Tous ces animaux — à l'exception de 2 appartenant au 2<sup>e</sup> groupe — ont succombé à la rage. Les ensemencements pratiqués avec le virus filtré sont demeurés stériles aussi bien à 37° qu'à 22°. La proportion extrêmement élevée des animaux qui ont succombé au cours de cette expérience doit être attribuée vraisemblablement à une perméabilité fortuitement plus considérable de la bougie.

*Expérience III.* — Même expérience le 5 septembre. Centrifugation pendant 1 heure 1/4 à l'aide de l'appareil de Kraüs. Trépanation de 24 lapins. Des 8 inoculés avec le virus non centrifugé, 1 a pris la rage. Dans le groupe des animaux ayant reçu le virus centrifugé profond, 2 animaux ont contracté la maladie. Des 2 lapins trépanés avec les dernières gouttes restant dans les godets de centrifugation, l'un a pris la rage et l'autre est demeuré indemne. Enfin les 8 lapins trépanés avec le virus centrifugé superficiel ont tous résisté.

*Expérience IV.* — Même expérience le 19 septembre. Centrifugation pendant 1 heure 1/4 à l'aide de l'appareil de Kraüs. Trépanation de 24 lapins. Aucun des 7 lapins inoculés avec la partie superficielle du virus centrifugé n'a pris la rage. Chacun des 2 autres groupes a présenté une atteinte. L'animal qui a reçu sous la dure-mère les dernières gouttes des 2 godets a résisté.

Ces expériences semblent montrer que la centrifugation a une certaine action sur le virus rabique. Trois fois sur quatre, — trois fois sur trois même si nous négligeons l'expérience II grevée d'une cause d'erreur, — nous voyons la partie superficielle

du virus centrifugé devenir complètement inactive, ce qui prouve que la rage est bien causée par un agent figuré et non par un contagé liquide vivant. Cependant, pour si nets qu'ils soient, les effets de la centrifugation ne sont que moyennement intenses. Dans l'expérience II, nous voyons le liquide superficiel être encore virulent après 1 heure  $1/4$  de centrifugation. Les lapins inoculés avec le virus profond n'ont présenté qu'une fois sur quatre une mortalité supérieure à celle des lapins qui avaient reçu le virus non centrifugé. Enfin les animaux inoculés avec les dernières gouttes des godets échappent d'ordinaire à l'infection. Il ne semble pas que les choses se passeraient ainsi si le parasite de la rage était un sporozoaire de  $0 \mu 5$  de diamètre, ayant traversé la bougie à la faveur d'un étirement spécial de son protoplasma. La constatation d'une action évidente — quoique peu marquée — de la centrifugation est au contraire en faveur de la nature ultra-microscopique du virus rabique. On conçoit en effet qu'un organisme ayant traversé la bougie à la faveur de ses très petites dimensions centrifugera, mais centrifugera imparfaitement, tout au moins avec un appareil élémentaire tel que celui dont nous disposons. Il est très probable qu'un centrifugeur électrique permettrait d'obtenir avec le virus rabique une centrifugation aussi intense que celle qu'un appareil ordinaire donne avec une culture de choléra des poules, par exemple...

b) On sait que Beijerinck, ayant filtré sur porcelaine des feuilles de tabac atteintes de « mosaïque », parvint à reproduire la maladie avec le suc filtre aussi facilement qu'avec le suc non filtré<sup>1</sup>. Il en conclut que la mosaïque était due à un contagé fluide vivant traversant le filtre comme une substance dissoute, et l'expérience suivante lui parut en faveur de cette hypothèse. Des feuilles malades sont triturées et déposées à la surface d'une couche de gélose ; après quelques jours, la couche superficielle est enlevée ; la couche profonde mise à nu contient le virus, puis- qu'elle transmet la maladie à des plantes saines. Quoi qu'il en soit de la valeur de cette expérience, ou du moins des conclusions qu'en tire l'auteur<sup>2</sup>, il nous a paru intéressant de la reproduire avec le virus rabique de la façon suivante :

1. E. Roux, Sur les microbes dits invisibles, *Bulletin de l'Institut Pasteur* 1903, nos 1 et 2.

2. E. Roux, *loc. cit.*



Autour de tubes à essai renfermant de 2 à 3 travers de doigt de gélatine droite, on fait à l'aide du couteau à verre un trait circulaire à  $1/2$  centimètre au-dessous du niveau supérieur du milieu nutritif, de façon à rendre ultérieurement facile et rapide la section du tube en cet endroit. Par-dessus la gélatine, on introduit 1 à 2 c. c. d'une émulsion de virus fixe bien aseptique, et on laisse quelques jours en contact à la température de la chambre. Au bout de 2 à 6 jours, l'émulsion est aspirée soigneusement à l'aide d'une pipette, et le tube est sectionné au niveau du trait marqué au couteau. Au moyen d'un fil de platine chauffé, le cylindre de gélatine est alors divisé en 3 disques : 1 disque supérieur qui, souillé par l'émulsion, est rejeté; 1 disque inférieur adhérent au tube à essai et rejeté également, enfin 1 disque intermédiaire, soigneusement préservé au cours des opérations précédentes, de toute contamination par le virus. Ce dernier disque est recueilli dans un verre flambé, liquéfié rapidement à l'étuve à  $37^{\circ}$  et injecté, après trépanation, sous la dure-mère d'un lapin. Sur 6 animaux inoculés, aucun n'a présenté ni rage ni phénomène pathologique d'aucune sorte. Le virus rabique n'a donc pas diffusé dans la masse de la gélatine à la façon d'une substance soluble. Il n'est donc pas dû à un *contagium vivum fluidum*, pour employer l'expression de Beijerinck. Du reste, le fait que le virus rabique est complètement arrêté par les bougies Berkefeld N et Chamberland F était déjà bien peu en faveur de cette hypothèse. Les expériences de centrifugation relatées plus haut lui sont complètement opposées.

c). Il reste que la rage soit causée, comme la fièvre aphteuse, la péripneumonie, la peste bovine, la fièvre jaune, par un organisme ultra-microscopique. C'est de beaucoup l'hypothèse la plus vraisemblable, et c'est à elle que nous nous arrêterons. Que pouvons-nous supposer des caractères de cet organisme?

Il importe tout d'abord de faire remarquer qu'organisme ultra-microscopique ne veut pas nécessairement dire : bactérie, puisque le *Micromonas Mesnili* de Borrel, qui est à la limite de la visibilité, traverse les filtres; puisque Finlay a émis l'hypothèse que la cause de la fièvre jaune résidait dans un hématozoaire ultra-microscopique. Il est toutefois plus probable que l'agent pathogène de la rage n'est pas un protozoaire, mais un microbe voisin du microbe de la péripneumonie de Roux et Nocard. Ce

dernier microorganisme traverse Chamberland F. L'agent pathogène de la rage est de dimensions plus considérables puisqu'il est arrêté par elle. Cependant le microbe de Roux et Nocard est — quoique très imparfaitement — visible au microscope, et le microbe de la rage est invisible aussi bien dans le filtrat que dans toutes les autres conditions. Il y a là une contradiction dont il faut sans doute demander l'explication à ce fait que le virus péripneumonique est « mobile » (Roux et Nocard), « très mobile » (Cotton et Mouton), tandis que le virus rabique serait immobile ou tout au moins très peu mobile. Ce défaut de mobilité entraînerait pour l'agent pathogène de la rage une difficulté plus grande à la fois de passage à travers les bougies et de visibilité au microscope. Comme dimensions et comme immobilité, le virus rabique paraît se rapprocher du virus aphteux qui traverse Chamberland F et non B, et surtout du virus claveleux qui, retenu par F, passe à travers F<sup>1</sup> et F<sup>3</sup>. Il paraît agir dans l'organisme infecté non seulement par sa multiplication, mais encore par la toxine qu'il secrète (de Blasi et Russo-Travali, Babès). Nous nous proposons de revenir sur ce point. Enfin l'influence que paraît avoir sur la filtration du virus la très fine trituration du système nerveux est un argument en faveur du siège intra-cellulaire du microorganisme.

Il nous reste à souhaiter que des perfectionnements à la méthode de MM. Siedentopf et Zsigmondy permettent bientôt d'établir si ces hypothèses sont fondées ou non.

En terminant, il nous plaît de faire remarquer que si le passage du virus rabique à travers la bougie Berkefeld est, comme nous le croyons, de nature à faire admettre les dimensions ultra-microscopiques du parasite de la rage, ce n'est que la confirmation d'une idée émise dès 1881 par M. Pasteur.

Constantinople, le 12 octobre 1903.

---

# ANAÉROBIES ET SYMBIOSE

PAR LE D<sup>r</sup> BIENSTOCK, DE MULHOUSE (ALSACE).

---

Ces questions, touchées par Pasteur pour la première fois il y a quarante ans, après avoir été négligées pendant très longtemps, ont été reprises dans ces dernières années, dans bien des travaux nouveaux. La symbiose naturelle des anaérobies de la putréfaction avec les aérobies, et leur travail commun pour dissoudre la matière organique morte et la rendre utilisable de nouveau, ont été expliqués par Pasteur, en disant que l'action des anaérobies n'est possible que quand les bactéries aérobies leur ont procuré le terrain nécessaire à leur développement, par l'absorption de l'oxygène existant et par l'éloignement de l'oxygène nouveau.

De nombreux savants ont cherché depuis quelques années à vérifier la justesse de l'hypothèse de Pasteur. Kedrowsky<sup>1</sup>, par exemple, attribue le phénomène à une substance de nature indéterminée produite par les aérobies, un « ferment », dont il cherche à démontrer la présence par l'expérience suivante : il tue, par le chloroforme, de la sarcine cultivée sur de la gélose inclinée, et ensemence sur ces cultures mortes, du *clostridium butyricum* ou du bacille du tétanos ; il obtient un développement de ces anaérobies. Mais si le bouillon est débarrassé de ses cultures aérobies par filtration, après avoir été précipité par l'alcool, il ne se produit pas de développement d'anaérobies. Scholz<sup>2</sup> et Matzuschita<sup>3</sup> ont recommencé sans succès ces essais de Kedrowsky, et sont revenus à l'hypothèse de Pasteur. Il y a quelques mois, v. Oettingen<sup>4</sup> a donné une nouvelle explication de ce fait, par une expérience qu'il appelle : « Symbiose séparée. » Pour simplifier les choses, il ne travaille qu'avec le bacille du tétanos et le *Staphylococcus aureus*. Dans deux tubes communiquants il ensemence, d'un côté le bacille

1. KEDROWSKY, *Zeitschrift f. Hygiene*, B. XX, 1895.

2. SCHOLZ, *Zeitschrift f. Hygiene*, B. XXVII, 1898.

3. MATZUSCHITA, *Zeitschrift f. Hygiene*, B. XLIII, 1902.

4. V. OETTINGEN, *Zeitschrift f. Hygiene* B. XLIII, 903



du tétanos, de l'autre le *Staphylococcus aureus* et il ferme. Le tube du *Staphylococcus* se peuple très abondamment, et bien qu'il absorbe l'oxygène, le bacille du tétanos n'arrive pas à se développer. Au contraire, s'il introduit de l'hydrogène dans les tubes, ou s'il verse un peu de bouillon du *staphylococcus* dans l'autre tube, il obtient aussitôt la culture du tétanos.

M. v. Oettingen imite aussi les expériences de Kedrowsky. Il tue le *Staphylococcus* par la lumière du soleil, par la chaleur de 55°, par le chloroforme, par la lumière diffuse du jour, puis il verse le bouillon des *Staphylococcus* dans le tube du tétanos, sans que ceux-ci se développent. En centrifugeant longtemps les tubes du *Staphylococcus*, il obtient des couches supérieures, claires et stériles, qui devraient contenir le ferment de Kedrowsky. Il verse ces couches supérieures dans le tube du tétanos; le résultat reste néanmoins négatif. S'il se produisait, ce qui est rare, un développement du tétanos, c'est qu'il s'était glissé des *Staphylococcus* dans le bouillon.

M. v. Oettingen en conclut que ni l'hypothèse de Pasteur, ni celle de Kedrowsky ne pouvait expliquer le phénomène. Il voit l'agent essentiel dans l'aérobie vivante. L'imparfaite puissance d'oxydation de l'anaérobie trouve à tout moment dans l'aérobie un coopérateur énergique, qui consomme avidement l'oxygène. Ce ne sont pas les aérobies qui produisent, comme le suppose Kedrowsky, le ferment que le filtre arrête, ce sont les aérobies elles-mêmes, qui sont le ferment organisé et retenu par le filtre; v. Oettingen conclut de ses essais que tout espoir a disparu à jamais d'obtenir un terrain de culture sur lequel puissent se développer les microorganismes anaérobies en cultures pures à l'air.

Mes recherches récentes me permettent de croire que cette opinion de v. Oettingen est excessive. Cette question de la symbiose entre les anaérobies de la putréfaction et les aérobies m'occupe depuis des années. Depuis que j'ai étudié en 1899, à l'occasion de mes travaux sur le *B. putrificus*, son action sur les substances albuminoïdes en culture mixte avec les bactéries aérobies, je n'ai plus perdu de vue cette question. Pendant toutes ces dernières années j'ai fait travailler mon *Putrificus* symbiotiquement avec un très grand nombre de bactéries aérobies, dont je ne veux citer que les suivantes :

*Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Proteus Zenkeri*, *B. fluorescens liquefaciens et putidus*; *B. pyogænes fætidus*, *B. ureæ*, *B. subtilis*, *B. mesentericus vulgatus* et *niger*, *B. radiol*, les différents *Tyrothrix*, *B. pyocyaneus*, *B. butyricus Hueppe*, *B. coli*, *B. lactis aerogenes*, *B. du lait bleu*, *B. du lait rouge*, *B. dénitrifiants*, *B. typhi*, *B. paratyphi*, *B. de la diphtérie*, pneumobacille de Friedlander;

*B. du rouget de porc*, *B. de la peste porcine*, *B. de la pneumo-entérite du porc*, *B. du choléra des poules*, *Vibrio cholerae*, *Spirillum Finkler*, *Spirillum tyrogenum Deneke*, *Vibrio phosphorescens*, *Micrococcus tetragenus*, *Staphylococcus albus*, *aureus citreus*, et divers streptocoques, etc.

Je procédais ordinairement de la manière suivante : je stérilisais des flocons de fibrine, bien lavée et blanche, dans le liquide d'Uchinsky, et j'y ensemenciais des aérobies. Après quelques jours j'ajoutais le *Putrificus*. J'avais observé qu'il y a, parmi les aérobies, des espèces à l'aide desquelles le développement de l'anaérobie et la putréfaction de la fibrine se produisent rapidement, et d'autres ne nuisant pas au développement du *Putrificus*, mais entravant son activité putréfiante.

J'étendis aussi mes essais à d'autres anaérobies, au vibron septique, au bac. du tétanos, au *B. du charbon symptomatique*, au *B. botulinus*, au *B. cadaveris sporogenes* de Klein, au *B. enteridis sporogenes*, aux 3 *B. de Rodella* isolés de l'intestin des nourrissons, au *B. bifidus* de Tissier, au *B. biférmens* de Tissier; de sorte que j'ai pour ainsi dire travaillé avec la plupart des espèces anaérobies bien caractérisées. J'ai cherché le ferment de Kedrowsky dans toutes les cultures aérobies citées plus haut. Ces travaux durent naturellement des années, chez un médecin pratiquant, forcé de les interrompre à tout instant.

J'ai passé les diverses cultures en bouillon à travers le filtre. Je les ai détruites de différentes façons. Mes résultats ont été tout aussi négatifs que ceux des autres chercheurs. Je ne vis se produire la putréfaction que dans un travail commun du *Putrificus* et des aérobies vivantes.

Je ne découvris qu'une exception, et, sous de certaines conditions, celle du *B. pyocyaneus* de Gessard.

Si de la fibrine est infectée par le *Pyocyaneus* dans le liquide

d'Uchinsky-Fraenkel, auquel on a ajouté 1 à 2 0/0 de sucre, il se montre après quelques jours un changement dans la texture et dans la consistance de la fibrine. Elle perd sa couleur blanche, se gonfle, devient brunâtre, un peu vitreuse. Auparavant serrée et solide, elle est à présent flasque, et se laisse facilement couper par le fil de platine, ce qui n'était pas possible avant l'ensemencement.

C'est le moment propice pour expérimenter. Si l'on tue maintenant le *Pyocyanus* en le portant à 100°, et que l'on sème le tube avec le *Putrificus*, il se produit, après 1, 2 à 3 jours, sans qu'aucune des conditions anaérobies ait été créée, le développement de cette anaérobie absolue, qui se fait aussitôt remarquer par l'apparition de grandes bulles de gaz putrides. On ne remarque tout d'abord au microscope que de rares bâtonnets longs et grêles du *Putrificus*. Bientôt ils augmentent en nombre, et les jours suivants on voit déjà beaucoup de baguettes de tambour caractéristiques. Les petits bâtonnets du *Pyocyanus* mort ne prennent pas la coloration aussi bien que les formes du *Putrificus*; ils deviennent, de jour en jour, plus difficiles à colorer, ne forment bientôt plus qu'une masse diffuse, presque incolore; finalement, ils ont complètement disparu, et l'on a au microscope l'image d'une culture pure du *Putrificus*.

Naturellement, je me suis entouré dans toutes ces expériences de toutes les mesures nécessaires de contrôle. Je me suis dit d'abord que la cuisson de la culture du *Pyocyanus* présentait déjà par elle-même des conditions anaérobies suffisantes pour pouvoir permettre le développement du *Putrificus*. Il est connu qu'il peut se produire parfois une croissance d'anaérobies dans du bouillonensemencé aussitôt après la cuisson. De toute façon, cela se produit assez rarement, même après un ensemencement copieux. Pour éviter cette incertitude d'interprétation, je n'ai inoculé le *Putrificus* que 15 jours après avoir tué le *Pyocyanus*.

Dans les cas où j'inoculais peu de temps après la stérilisation, je tirais, en les infectant, les flocons de fibrine un moment du liquide avec le fil de platine, pour faire pénétrer de l'air dans le bouillon.

J'ai aussi exclu la possibilité que le sucre ajouté pût être la cause adjuvante du développement de l'anaérobie.



Le *Putrificus* ne se développait jamais dans le milieu nutritif, préparé et inoculé sous les mêmes conditions, mais sans être précédé de l'action des *Pyocyaneus*.

Je contrôlais ces essais de la manière suivante : après avoir tué la culture du *Pyocyaneus* sur fibrine, j'en enseménçais sur de la gélose inclinée et sur du bouillon; je recommençais après l'ensemencement du *Putrificus*, et, aussitôt que les premières bulles de gaz putrides s'élevaient, j'inoculais à l'air sur de la fibrine dans de la solution d'Uchinsky, avec et sans sucre, qui, naturellement, devait rester inaltérée et claire, et à la fin de la putréfaction, je faisais une culture en piqure pour être sûr que l'anaérobie existait encore en culture pure, sans avoir été contaminée par des aérobies accidentelles.

Il faut aussi remarquer ce qui suit : pour cet essai, il faut toujours infecter un grand nombre de tubes avec le *Pyocyaneus*. Quoique tous les tubes soient tenus sous les mêmes conditions, et que leur infection provienne de la même culture du *Pyocyaneus*, l'altération de la fibrine ne se produit pas de manière égale dans tous les tubes. Je n'ai pu savoir pourquoi. De même, on sait que la formation de la couleur du *Pyocyaneus* n'est pas toujours égale dans les mêmes conditions. Dans à peu près la moitié des tubes, la contexture ferme de la fibrine ne se modifie pas, malgré le développement du *Pyocyaneus*. Ces tubes sont inutilisables pour les essais avec les anaérobies. On n'y peut obtenir la croissance des anaérobies après la stérilisation du *Pyocyaneus*. D'un autre côté, il faut la présence de la fibrine pour la réussite de l'essai. Si la fibrine, altérée par le *Pyocyaneus* est retenue par le filtre après la destruction de l'aérobie, et que le liquide seul soit infecté, le *Putrificus*, ne se développe pas.

J'ai obtenu le même développement de l'anaérobie sans conditions anaérobies de la manière suivante : j'infectais du liquide d'ascite stérile avec le *Pyocyaneus*, et après 4 ou 6 semaines d'étude, je le distribuais dans des tubes et le stérilisais. Si l'on ensemence le *Putrificus* dans le liquide se trouvant au-dessus de l'albumine coagulée, il se développe, et l'albumine se putréfie rapidement.

Si l'on répète cette expérience sans avoir semé d'abord le *Pyocyaneus* ou une aérobie autre que le *Pyocyaneus*, toute

croissance du *Putrificus* est exclue. Si l'on infecte le liquide sans le coagulum, le *Putrificus* ne se développe également pas. Ainsi, dans cet essai comme dans celui avec la fibrine, la présence de l'albumine coagulée est nécessaire pour la réussite de l'expérience.

Je répétais ces essais avec d'autres anaérobies. Ils ont réussi avec un *putrificus* de Tissier, avec le *B. cadaveris sporogenes* de Klein, le *B. d'œdème malin*, le *B. du charbon symptomatique*, le *B. botulinus*, avec le *B. III* de Rodella, qui ressemble au vibrion septique. Ils n'ont pas réussi avec le *B. du tétanos*, le *B. enteritidis sporogenes Klein*, le *Bifidus* de Tissier, le *Bifementans* de Tissier, le *Perfringens*, les *B. II* et *I* de Rodella.

Si l'on compare le premier groupe de ces bactéries au second, on voit qu'il s'agit, dans le premier groupe, d'anaérobies qui décomposent l'albumine exactement comme le *Putrificus* et avec les mêmes produits de dislocation, tandis que les bactéries du second groupe, au moins dans les races qui sont à ma disposition, n'exercent pas d'action putréfiante.

Peut-être faut-il y chercher l'explication de la non-réussite des expériences citées plus haut.

La question, touchée au commencement de ce travail, n'est certainement pas encore résolue, mais a au moins avancé un peu par mes recherches récentes.

On sait depuis longtemps que des bactéries anaérobies obligées peuvent-être cultivées à l'air, dans un terrain de culture liquide, et qu'elles ne sont même pas entravées dans leur développement par le passage lent et continu de l'oxygène, si elles agissent symbiotiquement avec n'importe quelle sorte d'aérobie, mais vivante.

D'un autre côté on voit par mes expériences qu'une espèce déterminée et ubiquitaire livre des produits qui rendent inutile, pour les anaérobies putréfiantes, la symbiose avec des aérobies.

Par là l'hypothèse de Pasteur, que les anaérobies de la putréfaction ne peuvent commencer leur œuvre dans la nature que quand elles se trouvent accompagnées d'aérobies, consommant l'oxygène ennemi, perd tant soit peu de sa valeur.

Des travaux ultérieurs auront à rechercher quelle est la substance qui rend possible aux anaérobies leur vie à l'air sans symbiose avec des aérobies.

Quelques coïncidences vous rappellent la *Pyocyanase* d'Emmerich et de Loew.

La pyocyanase dissout la fibrine. Nous n'avons vu se produire les faits décrits que quand la fibrine commence à se dissoudre dans la culture liquide du *Pyocyaneus*. La pyocyanase est très résistante à la chaleur, une cuisson même de plusieurs heures ne diminue pas son activité. Nous avons également vu que, malgré la stérilisation répétée du *Pyocyaneus*, la substance qui fournissait le terrain propre au développement des anaérobies n'était pas détruite.

---



# ÉTUDES D'HYDROGRAPHIE SOUTERRAINE

PAR E. DUCLAUX

(Suite. V. p. 523 et 640.)

---

## VIII

### TERRAINS PRIMITIFS ET VOLCANIQUES

En continuant autour du Cantal le tour que nous avons commencé, nous rencontrons un secteur que je tiens à séparer du reste : c'est celui qui va de la vallée de l'Alagnon à celle du Goul, en traversant celle de l'Epie, et qui embrasse la partie la mieux caractérisée, la Planèze. Sa moitié Est, qui va de l'Alagnon à l'Epie, est cet éclat de vitre triangulaire, portant le Plomb du Cantal à son angle supérieur, et qui s'étend en pente douce jusqu'à Saint-Flour comme capitale et jusqu'aux limites du département. C'était, au temps de Dufrénoy et Elie de Beaumont, la démonstration classique de ce que pouvait être un cratère de soulèvement, un solide coup de coude appliqué au centre de la vitre qu'était la masse volcanique, car dans cette théorie singulière la matière avait précédé la forme et préexistait au soulèvement. Il ne faut pas dire trop de mal de cette doctrine, que la science a trop abandonnée après l'avoir trop prônée, car nous la retrouvons, très réduite, il est vrai, dans les dislocations qu'a subies notre toit intérieur de dépôts calcaires. Avant ou pendant la durée du volcan, les grands fragments de cette nappe, pour lesquels le mot *d'éclats de vitre* semble mieux fait que pour les masses volcaniques, se sont brisés et diversement inclinés. Il est sûr que dans les vallées du Goul, de la Cère, de la Jordanne, de l'Authre, pour ne parler que de celles que je connais bien, il y a beaucoup plus de sources, et plus abondantes, sur le flanc nord que sur le flanc sud de la vallée, et que par conséquent la couche profonde ne se soit un peu inclinée dans le sens par où les eaux s'écoulent de préférence. Il serait même intéressant de rechercher, par une étude plus précise des niveaux, si ce dénivèlement par

bascule, d'un côté qui s'abaisse pendant que l'autre s'élève, ne daterait pas du moment où le cratère s'est ouvert, et s'il n'y avait pas là les germes du creusement et de l'existence des vallées actuelles. Le *facies* général du Cantal daterait dans ce cas du coup de coude qui l'a créé.

Le même coup y a déposé aussi les germes de son histoire agricole future. Les prairies (je parle des prairies naturelles avec irrigation) commencent au toit de 700 mètres, là où il existe. Plus bas, elles sont plus arrosées que si le toit intérieur n'existait pas. Plus haut, sur tous les flancs du Cantal, elles ne bénéficient de sa présence que parce que l'atmosphère est plus humide. Mais elles donnent une idée assez juste de ce que serait le Cantal si le coup qui l'a créé, au lieu de porter sur un des bords du plateau calcaire, avait porté en plein gneiss. Le Planèze est l'image exacte de ce que serait le Cantal sans calcaire. Sur les hauteurs, au voisinage du Plomb, ce sont les mêmes pâturages, la même *montagne* que partout, un peu moins humide que plus à l'Ouest, à cause de la direction des vents pluvieux. Plus bas, jusqu'à la hauteur de 1000 mètres, c'est la montagne, c'est-à-dire la prairie sans coupes, qui est le mode d'exploitation de beaucoup le plus général. Au-dessous, c'est la culture qui peut se passer d'eau en été, les céréales; aux hauteurs où partout dans le Cantal la prairie domine, en Planèze ce sont les moissons, que le terrain soit du gneiss ou de la lave.

C'est que, très différents de nature, ces terrains se ressemblent au point de vue agricole. Ils sont tous deux très perméables pour la pluie. Quand, partant de Saint-Flour, placé à la base de l'éclat de vitre dont je parlais tout à l'heure, on se dirige vers Chaudesaigues, la route borde longtemps la ligne de séparation d'une couche de basalte des plateaux et du terrain primitif. Cette ligne marque visiblement, sur la carte géologique, la cassure inférieure de l'éclat triangulaire dont le sommet porte le Cantal. Mais rien n'avertit le voyageur. Les deux terrains se fondent l'un dans l'autre, et leurs contours aussi. L'eau est aussi rare d'un côté que de l'autre. Il n'y a quasi pas de ruissel-

1: Les cartes de l'état-major sont insuffisantes. Il faudrait opérer avec les minutes, qui sont au 1/20,000. Ayant demandé officiellement le tirage d'une épreuve pour le Cantal, qu'on donne aux officiers, on m'a répondu en me parlant de la défonse nationale: je n'étais pas assez pervers pour la compromettre en cherchant les origines lointaines du Cantal, et je n'ai pas insisté.

lement, la pluie et la neige sont absorbées sur place. Les habitations, rares, recherchent la ligne de contact des deux sols, parce que c'est là qu'elles rencontrent de préférence les eaux qui ayant coulé sous la couche de laves, rencontrent l'ancien sol gneissique, et forment des sources à leur réapparition. Bouzentes, les Ternes, Sérriers, Lavastrie, Cordesse, Oradour, Pierrefort sont ainsi rangés le long de cette ligne de contact de deux terrains, devenue, par des conditions naturelles, la ligne de restitution à un bief inférieur des eaux tombées d'un niveau supérieur. C'est, si on veut, quelque chose d'analogue au niveau de 700 mètres que nous avons rencontré sur l'autre versant, mais sans sa régularité ni sa puissance.

On pourrait relever les mêmes faits dans tous les pendentifs en basalte des plateaux, appliqués sur les flancs de la montagne. Je n'insiste pas, cet ordre d'idées ne nous intéresse que par ses connexions avec la composition des eaux. Si je montre en effet que les eaux qu'on rencontre en pays de gneiss ont à peu près la même composition que dans le terrain volcanique, on comprendra qu'avec la même origine, la même quantité et à peu près les mêmes qualités, elles ne peuvent pas s'inscrire dans le *facies* agricole. Je citerai un seul exemple, dans lequel on passe du terrain volcanique au terrain de micaschistes et de gneiss. Je pars de Saint-Flour, assis au bord d'une terrasse de basalte, pour arriver d'abord à Cordesse, placé sur l'autre bord de la coulée, puis à Chaudesaigues, de l'autre côté de la Truyère, rivière dont la vallée occupe le fond de toute la partie gneissique du département.

N <sup>os</sup> d'ordre.	Origine.	Alt.	Dates.	Temp <sup>re</sup> .	Résidu.	Chaux.	Sal. marin.
225	Saint-Flour	883	24.IX.99	16,0	224	14	8,0
226	Le Piron	880	24.IX.99	17,0	52	3	7,0
227	La Gazelle	—	24.IX.99	13,3	44	2	2,0
228	Bouzentès	995	25.IX.99	10,5	121	23	5,0
229	Les Ternes	994	25.IX.99	10,2	126	21	2,0
230	Peyrelade	1,008	25.IX.99	11,1	96	13	6,0
231	Cordesse	910	25.IX.99	9,8	94	13	5,0
232	Pont de Laneau	648	25.IX.99	11,6	50	5	4,0
233	Chaudesaigues	670	26.IX.99	13,2	45	7	6,0
234	Truyère	700	24.IX.99	15,0	23	5	4,0
235	R. de Bournoncles	—	24.IX.99	12,9	28	3	4,0



*Observations.* — 225, eaux de Saint-Flour. — 226, petite source à gauche de la route en allant au Pirou. — 227, source de M. de Vaissière, amenée de 2,500 mètres. — 228, 229, 231, sources des localités. — 230, puits à fleur de sol. — 232, source de l'auberge. — 233, source du Lys. — 234, 235, rivières au pont de Garabit.

Si on laisse de côté les nos 225 et 227, sources venues de loin, on voit que les sources du gneiss ont même composition que les eaux des terrains volcaniques, avec des chiffres sensiblement plus faibles. L'étude des deux dernières rivières, qui toutes les deux ont coulé sur du gneiss, montre que les choses se passent comme dans la vallée de la Cère. L'eau est encore moins chargée que les eaux de sources. Il faut en effet tenir compte avec elles des eaux de pluie qui n'ont rien dissous sur leur passage.

Il est facile de résumer ce que nous venons d'apprendre au sujet des mouvements de l'eau dans le terrain volcanique du Cantal. Dès que les pluies sont tombées, elles pénètrent; il y a peu de ruissellement. La nourriture des rivières se fait surtout par les sources. Dans ces sources, il vient à la fois de l'eau superficielle, qui a séjourné et circulé dans les couches meubles voisines de la surface et dans le tapis de végétation qui leur sert de couvert, et les eaux plus profondes qui entrent dans la roche perméable et y commencent un voyage qui peut durer longtemps, des mois et peut-être des années. Pendant ce contact de durée très variable, les éléments du sol se dissolvent; mais comme ils sont très résistants, l'eau en entraîne peu et n'agrandit pas beaucoup les espaces dans lesquels elle circule. Par suite, les sources sont stables et conservent leur pouvoir filtrant. Comme il reste de l'argile à la place des portions les plus attaquables de la roche, et que les mouvements de l'eau sont lents, il n'y a pas de *nettoyage* des surfaces filtrantes, et pourtant celles-ci ne s'encrassent pas.

Il est probable, mais il y a matière sur ce point à un travail que j'ai à peine ébauché, que les quelques germes qu'on rencontre dans les sources viennent des parties superficielles, et non des parties profondes des eaux qui viennent s'y réunir. Quoi qu'il en soit, le pays a ceci de bon au sujet de la collecte et de l'origine des eaux, c'est qu'on sait toujours d'où vient tout filet d'eaux qu'on cherche à utiliser. Du moins n'ai-je jamais

éprouvé d'embarras à ce sujet : quand l'analyse me signalait un excès de calcaire, de sel marin, de matière organique, je trouvais toujours à petite distance, en amont, de quoi expliquer l'irrégularité. Les lignes de plus grande pente sont celles d'un cône circulaire dont l'axe est plus ou moins vertical.

Les choses se passeraient suivant ce schéma sur toute la surface de la masse volcanique si ce terrain n'avait pas de base, c'est-à-dire ne reposait pas sur un terrain différent. Sur la moitié ouest, c'est la couche calcaire que nous avons appelée niveau de 700 mètres. et qui, imperméable ou peu perméable, arrête, divise les sources qui viennent affleurer dans l'épaisseur des massifs, et en fait des sources plus abondantes venant jaillir dans des points privilégiés, et donnant à certaines vallées leur parure et leur richesse. Sur la moitié regardant vers l'orient est la lèvre surélevée de la fente qui a vomi le volcan, et celle-ci empêche, dans une mesure plus faible que la couche de 700 mètres, la descente des pluies tombées sur les basaltes qui lui servent de revêtement, et amène la guirlande de sources auxquelles sont suspendus les villages de la Planèze, comme Olmet et les villages voisins le sont à la frange de calcaire qui apparaît dans la vallée de la Cère.

---





## TABLE DES MATIÈRES

	Pages.
Nouvelles recherches sur l'arsenic de l'organisme. Présence de ce métalloïde dans la série animale, par M. G. BERTRAND.....	1
Quelques nouvelles races de levure de lactose, par M. MAZÉ.....	11
Influence de la configuration stéréochimique des glucosides sur l'activité des diastases hydrolytiques, par M. H. POTTEVIN.....	31
Étude sur l'hémolyse, par le Dr H. LANDAU.....	52
Observations sur les moustiques des environs d'Alger, par MM. Ed. SERGENT et Et. SERGENT.....	60
Résumé du rapport sur la campagne antipaludique organisée en 1902 à la gare de l'Alma (Est-Algérie), par MM. Ed. SERGENT et Et. SERGENT.....	68
Méthode d'hydrolyse des protoplasmides, par M. ÉTARD....	74
Observations à propos du mémoire de MM. Tissier et Martelly, par M. ACHALME.....	79
Épithélioses infectieuses et épithéliomas, par M. le Dr BORREL.....	81
Étude expérimentale de la clavelée, par M. le Dr BORREL....	123
De la fixation de la toxine tétanique par le cerveau, par M. BESREDKA.....	138
Recherches sur les propriétés antitétaniques des centres nerveux de l'animal immunisé, par M. D. DIMITRIEWSKY.....	148
Sur le mode d'action des antitoxines sur les toxines, par M. le Dr J. BORDET.....	161
Sur les hémolysines cellulaires, par M. C. LEVADITI.....	187
Sur la flore microbienne thermophile du canal intestinal de l'homme, par M <sup>lle</sup> TSIKLINSKY.....	216
Sur le Mal de Caderas, ou flagellose parésiente des équidés sud-américains, par MM. les Drs ELMASSIAN et MIGONE....	241
Le <i>Bacillus subtilis</i> comme cause de la panophtalmie chez l'homme, par le Dr SILBERSCHMIDT.....	268
Sur un nouveau streptothrix chromogène, par M. VALLÉE.....	288
Sur l'existence du virus rabique dans le siège de la mor-	

	Pages
sure d'un enfant mort de la rage, par M. le D <sup>r</sup> PAGE....	293
La rage dans l'Afrique du Sud, par M. le D <sup>r</sup> A. LOIR.....	298
Colorabilité des bacilles de Koch dans les crachats incor- porés à diverses substances, par M. le D <sup>r</sup> SABRAZÈS...	303
Observations concernant une étude de MM. les D <sup>rs</sup> TISSIER et MARTELLY, par M. le D <sup>r</sup> RODELLA.....	306
Ce que c'est qu'un aliment, par M. DUCLAUX.....	307
Alimentation azotée d'une algue, le <i>cystococcus humicola</i> , par M. le D <sup>r</sup> P.-G. CHARPENTIER.....	321
Recherches sur l'absorption de la toxine tétanique, par MM. V. MORAX et A. MARIE (2 <sup>e</sup> mémoire).....	335
Contribution à l'étude des substances actives des sérums nouveaux; sur la pluralité des alexines, par M. le D <sup>r</sup> L. REMY.....	343
Sur la non-existence des neutrophiles d'Ehrlich dans le sang de l'homme et du singe, par M. le D <sup>r</sup> MARINO....	357
Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1902, par M. E. VIALA.....	365
Recherches sur la physiologie d'une algue verte, par M. le D <sup>r</sup> P.-G. CHARPENTIER.....	369
Les entomophytes du charançon des betteraves à sucre, par MM. J. DANYSZ et K. WIZE.....	421
Crachoir stérilisable à fermeture automatique, par M. A. FOURNIER.....	447
Quelques observations sur le rôle des amibocytes dans le coelome d'un annélide, par MM. SIEDLECKI.....	449
La dysenterie épidémique, par MM. VAILLARD et DOPTER...	463
Études sur les microbes nitrificateurs, par MM. BOULANGER et MASSOL.....	492
Sur l'existence de l'arsenic dans l'œuf des poules, par M. G. BERTRAND.....	516
EDMOND NOCARD.....	521
Études d'hydrographie souterraine, par M. E. DUCLAUX...	523
Recherches sur la fermentation du lait, par MM. TISSIER et GASCHING.....	540
La garotilha, par MM. MARCHOUX et SALIMBENI.....	564
La spirilliose des poules, par MM. les D <sup>rs</sup> E. MARCHOUX et A. SALIMBENI.....	569

Emploi de la bombe calorimétrique de M. Berthelot pour démontrer l'existence de l'arsenic dans l'organisme, par M. G. BERTRAND.....	584
Sur la production de la mannite par les ferments des maladies des vins, par MM. P. MAZÉ et A. PERRIER.....	587
Contribution clinique à la sérothérapie de la peste, par M. le D <sup>r</sup> DUPRAT.....	599
Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur de Lille, par M. le D <sup>r</sup> VANSTEEBERGHE.....	606
L'Institut Pasteur de Pernambuco, par M. le D <sup>r</sup> A. FREITAS.....	609
L'Institut Pasteur de Kharkoff, par M. le D <sup>r</sup> KOTZEVALOFF..	613
Sur la résorption phagocytaire des ovules chez les Tritons, par M. CH. PEREZ.....	617
Levure de bière et suppuration (1 <sup>er</sup> mémoire), par M. EDMOND SERGENT.....	634
Recherches expérimentées sur l'inoculation de la syphilis au singe (bonnet chinois), par M. le D <sup>r</sup> C. NICOLLE.....	636
Études d'hydrographie souterraine, par M. DUCLAUX.....	640
La fièvre jaune; rapport de la mission française, composée de MM. MARCHOUX, SALIMBENI et SIMOND.....	665
Études sur la clavelée, par M. le D <sup>r</sup> BORREL.....	738
Formation des gîtes à larves d'Anopheles, par MM. les D <sup>rs</sup> ET. et ED. SERGENT.....	763
L'alcool et ses droits naturels, <i>revue critique</i> , par M. DUCLAUX.....	770
Études expérimentales sur la syphilis, par MM. E. METCHNIKOFF et E. BORREL.....	809
Recherches sur la coagulation du sang, par MM. J. BORDET et O. GENGOU.....	822
Le passage du virus rabique à travers les filtres, par M. le D <sup>r</sup> REMLINGER.....	834
Anaérobies et symbiose, par M. le D <sup>r</sup> BIENSTOCK.....	850
Études d'hydrographie souterraine, par M. DUCLAUX.....	857
Table des matières.....	863
Table alphabétique par noms d'auteurs.....	867





# TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

ACHALME . . . . .	Observations à propos d'un mémoire. . .	79
BERTRAND (G.) . . . . .	Arsenic dans la série animale . . . . .	1
— . . . . .	Sa recherche dans l'œuf des poules. . . .	526
— . . . . .	Sa recherche par la bombe calorimétrique. .	581
BESREDKA . . . . .	Fixation de la toxine tétanique par le cer- veau . . . . .	138
BIENSTOCK . . . . .	Anaérobies et symbiose . . . . .	830
BORDET . . . . .	Antitoxines et toxines. . . . .	161
BORDET et GENGOU . . . . .	Coagulation du sang. . . . .	822
BORREL . . . . .	Épithélioses infectieuses et épithéliomas. .	81
— . . . . .	Étude expérimentale de la clavelée. . . .	123
— . . . . .	Études sur la clavelée. . . . .	732
BOULANGER et MASSOL . . . . .	Microbes nitrificateurs. . . . .	492
CHARPENTIER . . . . .	Aliment azoté d'une algue verte. . . . .	321
— . . . . .	Physiologie du <i>Cystococcus humicola</i> . . .	369
DANYSZ et WISE . . . . .	Charençon des betteraves. . . . .	421
DIMITRIEWSKI . . . . .	Centres nerveux de l'animal immunisé. . .	148
DOPTER . . . . .	Voir VAILLARD.	
DUCLAUX . . . . .	Études d'hydrographie souterraine 523,640, .	837
DUPRAT . . . . .	Sérothérapie de la peste. . . . .	599
ELMASSIAN et MIGONE . . . . .	Sur le mal de Caderas. . . . .	241
ETARD . . . . .	Méthode d'analyse des protoplasmides. . .	74
FOURNIER . . . . .	Crachoir stérilisable. . . . .	447
FREITAS . . . . .	Institut Pasteur de Pernambucó. . . . .	609
GASCHING . . . . .	Voir TISSIER.	
GENGOU . . . . .	Voir BORDET.	
LANDAU . . . . .	Étude sur l'hémolyse. . . . .	52
LEVADITI . . . . .	Action des antitoxines sur les toxines. . .	161
LOIR . . . . .	La rage dans l'Afrique du Sud. . . . .	298
MARCHOUX et SALIMBENI . . . . .	La garôtilha. . . . .	564
— . . . . .	Spirillose des poules. . . . .	569
MARCHOUX, SALIMBENI et SIMOND . . . . .	La fièvre jaune. . . . .	665
MARIE . . . . .	Voir MORAX.	
MARINO . . . . .	Non-existence des neutrophiles d'Ehrlich. .	337
MARTELLY . . . . .	Voir TISSIER.	
MASSOL . . . . .	Voir BOULANGER.	
MAZÉ . . . . .	Nouvelles races de levure de lactose. . . .	41
— et PERRIER . . . . .	Production de mannite. . . . .	587
METCHNIKOFF et ROUX . . . . .	Syphilis du singe. . . . .	809
MIGONE . . . . .	Voir ELMASSIAN.	
MORAX et MARIE . . . . .	Absorption de la toxine tétanique. . . . .	335
NICOLLE (Ch.) . . . . .	Inoculation de la syphilis au singe . . . .	636
NOCARD . . . . .	Notice.	

PLACE. . . . .	Virus rabique au siège de la morsure. . .	293
PEREZ. . . . .	Résorption des ovules dans les tritons . .	617
PERRIER. . . . .	Voir MAZÉ.	
POTTEVIN. . . . .	Stéréochimie des diastases. . . . .	31
REMY. . . . .	Pluralité des alexines . . . . .	834
REMLINGER. . . . .	Filtration du virus rabique . . . . .	843
RODELLA. . . . .	Observations au sujet d'un mémoire. . .	306
ROUX. . . . .	Voir METCHNIKOFF.	
SABRAZÈS. . . . .	Colorabilité des bacilles de Koch. . . . .	303
SERGET (Et. et Ed.). . . . .	Moustiques aux environs d'Alger. . . . .	60
— — — — —	Campagne antipaludique à l'Alma. . . . .	68
— — — — —	Formation des gîtes d'anopheles. . . . .	763
SERGET (Ed.). . . . .	Levure de bière et suppuration. . . . .	631
SIEDLECKI. . . . .	Amibocytes dans le cœlome d'un annélide. . . . .	449
SILBERSCHMIDT. . . . .	<i>Bacillus subtilis</i> et panophtalmie . . . . .	268
TISSIER et GASCHING. . . . .	Fermentation du lait. . . . .	340
TSIKLINSKY. . . . .	Flore thermophile du canal intestinal. . . . .	216
VAILLARD et DOPTER. . . . .	Dysenterie épidémique . . . . .	463
VALLÉE. . . . .	Nouveau streptothrix chromogène. . . . .	288
VANSTERBERGHE. . . . .	Vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur de Lille. . . . .	606
VIALA. . . . .	Vaccinations antirabiques de 1902. . . . .	363
WISE. . . . .	Voir DANYSZ.	

## REVUES ET ANALYSES

DUCLAUX. . . . .	Ce que c'est qu'un aliment. . . . .	307
— . . . . .	L'alcool et ses droits naturels. . . . .	770

## TABLE DES PLANCHES

PL. I à VI.	Mémoire de M. BORREL.
PL. VII.	— de MM. ELMASSIAN et MIGNONE.
PL. VI.	— de M. MARINO.
PL. VIII et IX.	— de M. SIEDSSEEL.
PL. X à XIII.	— de MM. VAILLARD et DOPTER.
PL. XIV.	— de M. PEREZ.
PL. XV (double).	— de MM. MARCHOUX, SALIMBENI et SIMOND.
PL. XVI et XVII.	— de MM. METCHNIKOFF et ROUX.

---

Le Gérant : G. MASSON.

---

Sceaux. — Imprimerie Charaire.





MUSEUM DISTORE NATURALI  
LABORATORIO  
ANATOMIAE COMPARE





Fig. 4.



Fig. 5.

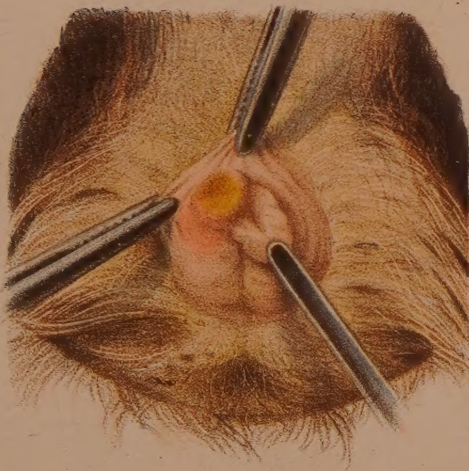


Fig. 3.



Fig. 2.



LABORATOIRE  
de PATHOLOGIE COMPARÉE  
MUSEUM D'HISTOIRE NATURELLE